

LICHT- UND ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE
UNTERSUCHUNGEN ZUR FETALEN
DIFFERENZIERUNG DER MÄNNLICHEN KEIMDRÜSE
DES RINDES

DORETTE SCHRAG

Diss. München 1984





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554004_0026

Aus dem Institut für Tieranatomie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

(Lehrstuhl: Prof. Dr. P. Walter†)

Arbeit angefertigt unter Leitung von
Prof. Dr. H.G. Liebich

LICHT- UND ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN
ZUR FETALEN DIFFERENZIERUNG DER MÄNNLICHEN KEIMDRÜSE
DES RINDES

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Dorette Schrag
aus
Pforzheim

München 1983

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan:	Prof. Dr. W. Leidl
Referent:	Prof. Dr. H.-G. Liebich
Korreferent:	Prof. Dr. M. Rüsse

Tag der Promotion: 24. Februar 1984

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. LITERATURÜBERSICHT	2
2.1. Allgemeine Differenzierung der männlichen Keimdrüse	2
2.1.1. Vergleichende Darstellung der Hodendifferenzierung verschiedener Säugerspezies	2
2.1.2. Bildung der indifferenten Gonadenanlage	2
2.1.3. Einwanderung der Urkeimzellen	4
2.1.4. Differenzierung der indifferenten Gonadenanlage zum Hoden	4
2.1.5. Genetische Determination der Hodenentwicklung	6
2.2. Spezielle Differenzierung der wichtigsten Zellpopulationen	6
2.2.1. Keimzellen	6
2.2.1.1. Einteilung der Keimzelldifferenzierung	6
2.2.1.2. Definitionen: Gonozyt und fetale Spermatogonie	7
2.2.1.3. Vermehrung der Keimzellen	8
2.2.1.4. Struktur der fetalen Keimzellen	8
2.2.2. Sertolizellen	10
2.2.2.1. Allgemeine Übersicht	10
2.2.2.2. Postnatale Differenzierung zur adulten Sertolizelle	10
2.2.2.3. Struktur und Funktion der adulten Sertolizelle	10
2.2.2.4. Abstammung und Vermehrung der fetalen Sertolizellen	11
2.2.2.5. Struktur der fetalen Sertolizellen	12
2.2.2.6. Funktion der fetalen Sertolizellen	12
2.2.3. Leydigzellen	13
2.2.3.1. Allgemeine Übersicht	13

	Seite
2.2.3.2. Struktur und Funktion der adulten Leydigzellen	13
2.2.3.3. Struktur der fetalen Leydigzellen	14
2.2.3.4. Androgenproduktion der fetalen Leydigzellen	15
2.2.3.5. Wirkungen des Testosterons der fetalen Leydigzellen	16
2.2.3.6. Fetale Steuerung der Androgensekretion	16
3. MATERIAL und METHODIK	18
3.1. Untersuchungsmaterial	18
3.2. Altersbestimmung	18
3.3. Materialvorbereitung	19
3.4. Histologische Präparationsmethoden	20
3.4.1. Lichtmikroskopie	20
3.4.2. Elektronenmikroskopie	21
4. BEFUNDE	22
4.1. Entwicklungsabschnitt I: Embryonen mit SSL von 2,0 - 5,5 cm	22
4.1.1. Lichtmikroskopische Befunde	22
4.1.2. Ultrastruktur des Oberflächenepithels	27
4.1.3. Ultrastruktur der Tunica albuginea	29
4.1.4. Ultrastruktur der Keimzellen	30
4.1.5. Ultrastruktur der Sertolizellen	33
4.1.6. Ultrastruktur der Basalmembran des Tubulus seminiferus	37
4.1.7. Ultrastruktur der Leydigzellen	38
4.2. Entwicklungsabschnitt II: Embryonen mit SSL von 5,6 - 9,5 cm	49
4.2.1. Lichtmikroskopische Befunde	49
4.2.2. Ultrastruktur der Keimzellen	52
4.2.3. Ultrastruktur der Sertolizellen	55
4.2.4. Ultrastruktur der Basalmembran des Tubulus seminiferus	59
4.2.5. Ultrastruktur der Leydigzellen	60

	Seite
4.3. Entwicklungsabschnitt III: Embryonen mit SSL von 10,5 - 21,0 cm	71
4.3.1. Lichtmikroskopische Befunde	71
4.3.2. Ultrastruktur der Keimzellen	74
4.3.3. Ultrastruktur der Sertolizellen	77
4.3.4. Ultrastruktur der Basalmembran des Tubulus seminiferus	79
4.3.5. Ultrastruktur der Leydigzellen	80
4.4. Entwicklungsabschnitt IV: Feten mit SSL von 23,5 - 70,0 cm	90
4.4.1. Lichtmikroskopische Befunde	90
4.4.2. Ultrastruktur der Keimzellen	93
4.4.3. Ultrastruktur der Sertolizellen	96
4.4.4. Ultrastruktur der Basalmembran des Tubulus seminiferus	99
4.4.5. Ultrastruktur der Leydigzellen	100
5. DISKUSSION	110
6. ZUSAMMENFASSUNG	132
7. SUMMARY	134
LITERATURVERZEICHNIS	136

1. Einleitung

Zum Themenkomplex Entwicklung des Hodens liegen für die Verhältnisse beim Menschen und einiger Säugetierspezies (u.a. Labortiere, Schwein, Pferd) bereits zahlreiche wissenschaftliche Arbeiten vor.

Der weitaus größte Teil dieser Untersuchungen behandelt einen speziellen Aspekt der Hodendifferenzierung. So wird in einigen Veröffentlichungen die Ultrastruktur der fetalen Keimzellen, Leydigzellen oder Sertolizellen beschrieben, in anderen die hormonelle Aktivität der fetalen Keimdrüse im in vitro Versuch dargestellt.

Sowohl die Ergebnisse dieser Arbeiten als auch die Nomenklatur der einzelnen Differenzierungsstufen der Zellen weichen in einigen Punkten erheblich voneinander ab. Daher fällt es schwer, sich einen für alle Tierarten gültigen Überblick über die Hodenentwicklung zu verschaffen.

Die einzigen Veröffentlichungen zu diesem Themenkreis, die das Rind betreffen, beziehen sich auf morphologische Umbauvorgänge während der Spermatogenese, auf Strukturveränderungen im pubertären Hoden und auf Messungen des Hormonspiegels im adulten und fetalen Hoden.

Für die fetale Strukturdifferenzierung der Keimdrüse des Rindes fehlen detaillierte Angaben bisher gänzlich.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, beim Rind allgemeingültige Vorgänge zur physiologischen Differenzierung des Hodens während der fetalen Entwicklung zusammenfassend darzustellen, bislang ungeklärte spezifische Aspekte der zellulären Differenzierung dieser Tierspezies zu untersuchen und bekannte endokrinologische Daten morphologischen Eigentümlichkeiten zuzuordnen.

2. Literaturübersicht

2.1. Allgemeine Differenzierung der männlichen Keimdrüse

2.1.1. Vergleichende Darstellung der Hodendifferenzierung verschiedener Säugerspezies (tabellarisch)

Zur fetalen Differenzierung der männlichen Keimdrüse der unterschiedlichen Säugetierarten einschließlich des Menschen liegen zahlreiche Einzelabhandlungen vor (González-Angulo et al. 1971, Wartenberg et al. 1971, Bjerregaard et al. 1974, Gondos 1974, Gondos 1977, Hadziselimović 1977, Gondos 1980, Leidl et al. 1982).

Um den Überblick über die bisherigen Befunde zu diesem Themenkomplex zu erleichtern und zur Frage ihrer zeitlichen Zuordnung eine vergleichende Darstellung zu ermöglichen, wurden die wichtigsten strukturellen und funktionellen Entwicklungsstadien des Hodens tabellarisch zusammengestellt (Tabelle 1, S.3).

2.1.2. Bildung der indifferenten Gonadenanlage

Die Gonadenanlagen entstehen als bilaterale Verdickungen des mesodermalen Gewebes und des bedeckenden Coelomepithels zwischen dem Mesonephron und dem dorsalen Mesenterium des Enddarmes.

Beim Menschen findet die Bildung der Gonadenanlage am 28. bis 35. Tag p.c. statt (Falin 1969), beim Schwein am 24. Tag p.c. (Pelliniemi 1975), bei der Ratte am 11. Tag p.c. (Schmidt u. Kreybig 1965) und beim Rind am 28. bis 32. Tag p.c. (ca. 10 mm SSL) (Jost u. Prépín 1966, Matschke u. Erickson 1969).

Nach Wartenberg (1978) induzieren aus dem Mesonephron ausgewanderte Zellen die Bildung der indifferenten Gonadenleiste.

Tabelle 1: Zeitliche Darstellung der wichtigsten funktionellen und strukturellen Differenzierungsabläufe während der fetalen Hodenentwicklung (in Tagen p.c.), modifiziert nach Gondos (1980)

Spezies	Graviditätsdauer	Hodendifferenzierung	Leydigzellförmung	Beginn d. Androgenproduktion	Peak der Androgenproduktion	Müller-Gang-Regression	Literaturnachweise
Hamster	16	11	11-13	-	-	12-13	Price u. Ortiz 1965 de Rosas u. Russo 1971 Gondos et al. 1974
Maus	19	12	12-13	12,5	15-17	14-15	Russo u. de Rosas 1971 de Rosas u. Russo 1971 Weniger u. Zeis 1972, 1975
Ratte	21	13-14	14-15	15,5	18,5-20,5	15,5	Lording u. de Kretser 1972 Warren et al. 1973 Jost et al. 1974 Feldman u. Bloch 1978
Kaninchen	31	15-16	17-18	18	23-29	19-20	Wilson u. Siiteri 1973 Gondos u. Conner 1973 Catt et al. 1975
Meerschweinchen	68	21-22	22-23	22-24	-	27-29	Black u. Christensen 1969 Price et al. 1975
Mensch	268	42-45	56-60	56-70	70-100	60	Pelliniemi u. Niemi 1969 Jirasek 1971 Siiteri u. Wilson 1974
Schwein	115	26-27	-	-	35-37	-	Pelliniemi 1975 van Vorstenbosch et al. 1982
Rind	280	41-42	43-45	42	-	50	Kim et al. 1972 Vigier et al. 1976 Shenesh et al. 1978

2.1.3. Einwanderung der Urkeimzellen

Die primordialen Keimzellen (i.e. Urkeimzellen) treffen beim Rind um den 32. bis 35. Tag p.c. (10-12 mm SSL) in der Gonadenanlage ein (Jost u. Prépin 1966, Vigier et al. 1976, Wartenberg 1983).

Nach der klassischen Theorie wandern sie amöboid aus dem dorsalen Dottersack in die Gonadenleiste ein (Jost u. Prépin 1966). Wartenberg (1983) weist beim Rind, dessen dorsales Mesenterium des Enddarmes sich während der Differenzierung extrem verlängert, einen teilweise vaskulären Transport der Keimzellen nach. Dementsprechend gelangen die Keimzellen über Blutgefäße in die Urniere, verlassen dort mit Hilfe eines "Falltürmechanismus" das Gefäß und werden, von Urnierenzellen geleitet, in die Gonadenanlage eingeschleust. U.a. stützt Wartenberg diese Theorie auf die Tatsache, daß in keinem Fall Keimzellen im dorsalen Mesenterium des Enddarmes auftraten.

2.1.4. Differenzierung der indifferenten Gonadenanlage zum Hoden

Diese beginnt beim Rind am 42. Tag p.c. mit der Bildung der Tunica albuginea und der ersten primitiven Keimstränge (Rüsse 1983). Die genetisch weibliche Gonadenanlage dagegen bleibt zunächst noch im indifferenten Stadium zurück. Erst am Ende des zweiten Graviditätsmonats (ca. 57. Tag p.c.) bilden sich Keimzellcluster, die den Beginn der Ovarienentwicklung darstellen (Rüsse 1983).

Über die Herkunft der Zellen, die sich zu primitiven Keimsträngen formieren und dabei die Keimzellen einschließen, bestehen verschiedene Auffassungen. Nach der bisher gültigen Theorie sprossen vom Oberflächenepithel Primärstränge ein, die tief ins Gonadeninnere vordringen und die Keimzellen in sich aufnehmen (Gier u. Marion 1970, Gondos 1974, Pelliniemi 1975).

Wartenberg (1978, 1983) und Kinsky (1979) dagegen nehmen an, daß die Urniere den Großteil der somatischen Hodenzellen liefert, aus denen sich später die Sertolizellen, Leydigzellen und peritubulären Zellen formieren. Ein Teil dieser mesonephrogenen Zellen (dunkel gefärbt und spindelförmig) aggregiert zu primitiven Keimsträngen. Gleichzeitig nehmen Keimdrüsenepithelzellen (groß und hell) Kontakt zu ins Oberflächenepithel eingewanderten Keimzellen auf, dringen gemeinsam mit diesen ins Gonadeninnere vor und bilden ebenfalls Keimstränge.

Zamboni und Upadhyay (1982) schließlich weisen beim Schaf eine Einwanderung von Zellen des sog. "giant mesonephric nephrons" nach. Dieses "giant nephron" unterscheidet sich in seiner Struktur völlig von einem konventionellen Nephron: Es ist sehr viel größer und besitzt sowohl mehrere Gefäßpole als auch zahlreiche Exkretionskanälchen. Seine Zellen wandern amöboid aus und bilden die Tubuli seminiferi, die Tubuli recti, das Rete testis und die Ductuli efferentes.

Aus den primitiven Keimsträngen entstehen die Tubuli seminiferi, die im weiteren Verlauf der Entwicklung ein kompliziertes System anastomosierender und verzweigter Schlingen bilden. Diese münden mit beiden Enden ins Rete testis ein (Hedinger u. Weber 1973).

In den ersten drei Monaten p.p. wächst der Durchmesser der Tubuli seminiferi zunächst langsam, danach jedoch stark an (Attal u. Courot 1963). Erst ab der 20. Woche beginnen sich in den bislang soliden Tubuli seminiferi sekundär Lumina zu bilden; dieser Vorgang dauert spätestens bis zur 32. Lebenswoche an (Abdel-Raouf 1960) und stellt die Voraussetzung für den Beginn der Spermatogenese dar.

Gleichzeitig mit der Anlage der Primitivstränge treten die ersten Elemente der Tunica albuginea in Form einer lockeren Schicht aus spindelförmigen Fibroblasten auf. Während des Fetallebens entwickelt sich diese in-

nere Hodenbegrenzung zu einer dicken Hülle aus Fibrozyten und extrazellulären Kollagenfibrillen, wobei eine äußere Faserschicht, die Tunica fibrosa, und eine innere Gefäßschicht, die Tunica vasculosa, unterschieden werden kann. Der Hilusanteil der Tunica albuginea entwickelt sich zum Mediastinum testis (Gondos 1974). Das die indifferente Gonadenleiste bedeckende Coelomepithel wird zum späteren Keimdrüsenepithel, das als einschichtige Zelllage, stark abgeplattet, die innere Schicht der Tunica vaginalis darstellt (Gondos 1974).

2.1.5. Genetische Determination der Hodenentwicklung

Nach neueren Erkenntnissen kodiert ein auf dem Y-Chromosom gelegenes Gen die Bildung des sog. H-Y Antigens (Histokompatibilitätsantigens). Dieses wird durch einen Rezeptor der somatischen Gonadenzellen - den späteren Sertolizellen - gebunden und veranlaßt die Aggregation der Blastemzellen zu Zellsträngen (Ciccarese u. Ohno 1978). Der Rezeptor ist sowohl in der genetisch weiblichen als auch männlichen Gonadenanlage vorhanden, wird jedoch folgerichtig nur im XY-Chromosomalen Embryo besetzt. Fehlt das Y-Chromosom, wird kein H-Y Antigen gebildet, und es entwickelt sich automatisch ein Ovar (König u. Elsaesser 1974, Wolf u. Zenzes 1979, Engel et al. 1980, Döcke 1981, Rieck 1983).

Den Keimzellen selbst wird keine Bedeutung bei der Organisation der Gonadenanlage zum Hoden zugeschrieben, da sich auch in ihrer Abwesenheit ein Hoden entwickelt (Merchant 1975).

2.2. Spezielle Differenzierung der wichtigsten Zellpopulationen

2.2.1. Keimzellen

2.2.1.1. Einteilung der Keimzelldifferenzierung

Die Differenzierung der männlichen Keimzellen, die sog.

Gametogenese, wird nach Hilscher und Makoski (1968), Hilscher (1974), Hilscher u. Hilscher (1976) und Bustos-Obrégon et al. (1975) in drei Phasen eingeteilt.

1. Die Prägonadale Phase: Sie umfaßt den Werdegang der Keimzellen von ihrem Erscheinen im Dottersack bis zu ihrem Eintreffen in der Gonadenanlage, deren Ursprung und deren möglichen Einwanderungs- bzw. Einschleusungsmechanismen bereits aufgezeigt wurden (s. S. 4).

2. Die Präspmatogenese-phase: Sie bezeichnet die Differenzierung und Vermehrung der Keimzellen während der Fetalphase und umfaßt die Begriffe Gonozyt und fetale Spermatogonie. Ihre Funktion ist die Bildung einer Population fetaler Spermatogonien, von der alle Stammspermatogonien abstammen (Huckins u. Clermont 1968, Hilscher 1974).

3. Die Spermatogenese-phase: Sie beginnt erst in der Pubertät mit der Teilung der Stammspermatogonien, der Meiose zu Spermatozyten und der Spermatohistogenese zu Spermatischen (Lengfelder 1978).

2.2.1.2. Definitionen: Gonozyt und fetale Spermatogonie

Große Unklarheit besteht über die Abgrenzung des Gonozyten zur fetalen Spermatogonie. Im wesentlichen wurden drei Definitionen aufgestellt.

Holstein et al. (1971) definieren die Begriffe Gonozyt und fetale Spermatogonie beim Menschen aufgrund morphologischer Merkmale: Gonozyten enthalten Glykogen, besitzen nur wenige tubuläre Mitochondrien und einen Filamentsaum an der Zelloberfläche. Fetale Spermatogonien dagegen enthalten kein Glykogen mehr, ihre Mitochondrien sind um den Kern gruppiert und weisen Crista-Innenstrukturen auf. Im Zytoplasma befinden sich zahlreiche, erweiterte ER-Zisternen, Interzellularbrücken können beobachtet werden.

Fukuda et al. (1975) teilen ebenfalls nach morphologischen Kriterien ein in 1. Gonozyt, 2. intermediate cell, 3. fetale Spermatogonie. Innerhalb der Differenzierungsphasen der Keimzellen weist der Gonozyt die höchste Kern-Plasma-Relation auf; die intermediate cells sind häufig durch Interzellularbrücken verbunden, ihre Kern-Plasma-Relation ist vermindert. Die fetale Spermatogonien hingegen besitzen die niedrigste Kern-Plasma-Relation und um den Kern konzentrierte Mitochondrien. Sie sind ebenfalls häufig durch Interzellularbrücken verbunden.

Gondos u. Hobel (1971) definieren entsprechend der Lokalisation der Keimzellen: Gonozyten sind einzelne zentral im Tubulus gelegene Zellen, fetale Spermatogonien dagegen in Gruppen oder Paaren in der Tubulusperipherie an der Basalmembran gelegene durch Interzellularbrücken verbundene Zellen.

2.2.1.3. Vermehrung der Keimzellen

Wie schon erwähnt, dient die Prä spermatogenese einer mitotischen Vermehrung. Diese unterliegt speziesspezifischen Entwicklungsabläufen. Beim Menschen verdoppeln sich die Gonozyten in der 7. bis 11. Woche und besitzen in der 13. bis 17. Woche p.c. ihr Maximum, danach sinkt ihre Zahl wieder (Vossmeier 1971).

Welcher Faktor den Eintritt der fetalen Spermatogonien in die Meiose verhindert, ist noch unklar. Jost et al. (1974) schlagen hierfür die Sertolizellen aufgrund ihrer engen räumlichen Beziehung zu den Keimzellen vor. Byskov (1978) fand den biologischen Nachweis für das Vorhandensein einer "meiosis inducing substance" im Ovar und einer "meiosis preventing substance" im Hoden der Maus.

2.2.1.4. Struktur der fetalen Keimzellen

Die Struktur der Gonozyten und fetalen Spermatogonien wurde von mehreren Autoren untersucht (Gondos u. Hobel 1971, Wartenberg et al. 1971, Gondos u. Conner 1973,

Fukuda et al. 1975).

Bei den Keimzellen handelt es sich um große, runde Zellen mit runden Kernen und nur wenigen tubulären Mitochondrien. Als Besonderheit tritt elektronendichtes, feingranuläres Material in ihrem Kern und Zytoplasma auf, das als "nuage", "chromatoid bodies" (Eddy 1974) oder auch als "dense bodies" und "A-bodies" bezeichnet wird (Franchi u. Mandl 1964, Roosen-Runge u. Leik 1968). Nuage tritt in Spermatogenezellen aller Differenzierungsstadien auf (Fukuda et al. 1975, Lengfelder 1978), ebenso in Oogonien und Oozyten (Amselgruber 1983), wobei es in den Oogonien des Menschen häufiger vorkommt als in den fetalen Spermatogonien (Kellokumpu-Lethinen u. Söderström 1978). Aufgrund dessen wurde vermutet, daß es sich um eine charakteristische, morphologische Struktur der Säugerkeimzellen handle. Nuage ähnelt außerdem in Form und Verteilung stark den "polar granules" der Insekten und dem Keimplasma der Amphibien, welche wahrscheinlich bei der Determination der Keimzellen eine Rolle spielen (Eddy 1974). Dem Nuage des Säugers wird eine ähnliche Bedeutung zugeschrieben.

Charakteristisch für die Keimzellen während ihrer Mitose und Meiose sind ferner die sog. Interzellulärbrücken. Sie bestehen aus einem kurzen, zylindrischen Kanal ($\emptyset$ 0,5-1,0 μ m), der von den elektronenoptisch verdichteten Plasmalemmata der beiden verbundenen Zellen begrenzt wird. Im Hoden treten Interzellulärbrücken bereits zwischen Gonozyten auf, bleiben durch die gesamte Meiose hindurch bestehen und verschwinden erst wieder in der späten Spermiogenese. Über die Funktion der Interzellulärbrücken wurden verschiedene Vermutungen angestellt: Nährstofftransport von einer Zelle zur anderen, Informationsaustausch zur synchronisierten Entwicklung oder sonstiger Austausch genetischen Materials, Begrenzung der Gonozytenmitosen oder

Restriktion ihrer Motilität (Zamboni u. Gondos 1968, Gondos 1973, Amselgruber 1983).

2.2.2. Sertolizellen

2.2.2.1. Allgemeine Übersicht

Sie wurden nach ihrem Entdecker Sertoli (1865) benannt, der sie als säulenförmige mit Zytoplasmaausläufern von der Basalmembran ins Tubuluslumen reichende Zellen beschrieb, die eine Nährfunktion bezüglich der Keimzellen erfüllen.

Die Sertolizellen wurden auch als Stütz-, Nähr- oder Ammenzellen bezeichnet (englisch: supporting cells).

2.2.2.2. Postnatale Differenzierung zur adulten Sertolizelle

Die postnatale Differenzierung der Sertolizellstruktur des Menschen von der Geburt zur Pubertät wurde von Hadziselimović u. Seguchi (1974) und Hadziselimović (1976) untersucht. Diese teilen die postnatale Differenzierung der Sertolizellen in den Sa-, den Sb- und den Sc-Typ (i.e. jungerwachsene Sertolizelle) ein. Als Ursache für die postnatale Umwandlung der hochdifferenzierten fetalen Sertolizelle zum kleinen, undifferenzierten Sa-Typ wird die postnatal fehlende HCG-Stimulation vermutet. Mit der Pubertät erfolgt eine erneute Gonadotropinausschüttung, die eine Polarisierung der Sertolizelle (i.e. Sb-Typ) und eine Entfaltung des endoplasmatischen Reticulums zur Folge hat (i.e. Sc-Typ).

2.2.2.3. Struktur und Funktion der adulten Sertolizelle

Die Sertolizellen des Erwachsenen sind hochprismatische Zellen mit basalständigen, eingekerbten Kernen, deren apikaler Teil von Spermatogenesezellen eingerahmt ist. Als typisches Merkmal weisen sie den sog. "Lamellar-körper" auf, ein Gebilde aus konzentrisch angeordneten,

fenestrierten, agranulären ER-Zisternen, das in engem räumlichen Kontakt zu Lipoid einschläüssen steht. Seine Funktion ist unbekannt. Ferner treten in adulten Sertolizellen Tono- und Mikrofilamente und in der Nähe des Kernes sog. Charcot-Böttcher-Kristalle auf (Nagano 1966, Flickinger 1967). Ein besonders wichtiges Strukturmerkmal stellen die zwischen den adulten Sertolizellen auftretenden, als "Sertolicell-junctions" bezeichneten tight junctions (i.e. occluding junctions) dar. Sie sind die strukturelle Basis der "Blut-Hoden-Schranke", die das Tubulusepithel in ein basales und ein apikales Kompartiment einteilen (Fawcett et al. 1970a, Dym 1973, Vitale et al. 1973, Gilula et al. 1976).

Neben ihrer Funktion als Schranke erfüllen die Sertolizellen des adulten Hodens noch weitere Aufgaben: Phagozytose degenerierter Spermatogenezellen (Sap-
ford et al. 1969), Sekretion der Tubulusflüssigkeit, Sekretion des intratubulär wirksamen Androgen-Bin-
ding-Protein und damit die indirekte Steuerung der Spermatogenese (Fritz et al. 1974).

2.2.2.4. Abstammung und Vermehrung der fetalen Sertolizellen

Die fetalen Sertolizellen, auch als Präsertolizellen bezeichnet, sind somatische Zellen, die entweder vom mesothelialen Coelomepithel, von der Urniere oder von beiden Zellsystemen abstammen (s.S.4-5).

Die Sertolizellen teilen sich unter FSH-Einfluß bis zum Eintritt der Geschlechtsreife; danach sinkt ihre hohe Anzahl langsam infolge Degeneration einiger Zellen während des gesamten Lebens des Individuums (Steinberger u. Steinberger 1971). Ob Sertolizellen unter bestimmten Bedingungen, wie beispielsweise Röntgenstrahlung, wieder Teilungsfähigkeit erlangen können, ist noch unklar.

2.2.2.5. Struktur der fetalen Sertolizellen

Die Struktur der fetalen Sertolizellen wurde am Meerschweinchen (Black u. Christensen 1969), der Ratte (Jost et al. 1974), dem Kaninchen (Bjerregaard et al. 1974) und dem Schwein (Pelliniemi 1975) untersucht.

Die fetalen Sertolizellen sind polygonale oder längliche Zellen, die einen unregelmäßig eckig bis eingekerbten Kern mit marginaler Chromatinkondensation besitzen. Sie sind wesentlich kleiner als die Keimzellen. In ihrem Zytoplasma befinden sich zahlreiche Organellen: viele Polyribosomen, längliche Mitochondrien vom Crista-Typ, Lipide in wechselnder Menge und verstreute dense bodies.

Über Häufigkeit und Erscheinungsform des ER und der Lipide bestehen sehr unterschiedliche Angaben. Beim Kaninchen entwickelt sich das ER vom 16. bis 18. Tag p.c., die Zelle füllt sich mit Lipiden. Vom 19. bis 21. Tag p.c. ist das ER hochentwickelt, oligogranulär und liegt häufig in Form fenestrierter Wirbel vor. Die Lipide sind verschwunden. In der letzten Woche ante partum (22. bis 29. Tag) nimmt das ER wieder ab und wird oligogranulär (Bjerregaard et al. 1974). Bei der Ratte dagegen ist eine starke Vermehrung des ribosomalen ER beschrieben (Merchant-Larios 1976), während beim Meerschweinchen das agranuläre ER dominiert (Black u. Christensen 1969).

2.2.2.6. Funktion der fetalen Sertolizellen

Das extrem stark differenzierte ER wird allgemein für die Synthese einer Substanz verantwortlich gemacht, die die Rückbildung des Müller-Ganges verursacht. Während in älteren Arbeiten wahlweise eine Steroid- oder Peptidstruktur angenommen wird, wurde die aktive Komponente der Müller-Gang-Hemmsubstanz

als makromolekulares Glykoprotein bzw. Protein identifiziert (Swann et al. 1979).

In der englischsprachigen Literatur wird diese Substanz bezeichnet als: Anti-Müllerian-Hormone (AMH) oder -Substance (AMS), Müllerian-Inhibiting-Hormone (MIH) oder -Substance (MIS).

Im in vitro Versuch wurde die Aktivität des AMH des Rinderhodens (Josso et al. 1975, Donahoe et al. 1977) und Schweinehodens (Tran et al. 1981) nachgewiesen. Neben der Produktion des AMH besitzen die fetalen Sertolizellen noch eine weitere wichtige Funktion: Sie phagozytieren degeneriertes Gonozytenmaterial (Black 1971).

2.2.3. Leydigzellen

2.2.3.1. Allgemeine Übersicht

Bereits 1850 wurden die Hodenzwischenzellen von Leydig das erste Mal beschrieben.

Inzwischen weiß man, daß es sich um Zellen handelt, die sich kurz nach der Hodendifferenzierung aus dem Hodenmesenchym entwickeln und während des Fetallebens Androgene produzieren. Um den Zeitpunkt der Geburt bilden sie sich vorübergehend zurück, um nach der Pubertät wiederum Androgene zu synthetisieren.

2.2.3.2. Struktur und Funktion der adulten Leydigzellen

Zur Struktur der postnatalen Leydigzell-Differenzierung liegen ebenfalls detaillierte Untersuchungen vor (Mensch: Seguchi u. Hadziselimović 1982, Eber: Dierichs u. Wrobel 1973, Evans u. Sack 1973, Aguas 1983).

Die morphologischen Charakteristika der adulten Leydigzellen sind reichlich vorhandenes agranuläres ER, tubuläre Mitochondrien und Lipideinschlüsse. Außerdem tritt gelegentlich das Reinke'sche Kristall auf (Fawcett 1977).

Die Funktion der adulten Leydigzellen besteht in der Synthese der Androgene, wobei dem Testosteron die wichtigste Bedeutung zukommt. Dieses ist für die Aufrechterhaltung der Spermatogenese verantwortlich, indem es entweder direkt über Androgenrezeptoren auf die Keimzellen einwirkt oder indem es indirekt die Sertolizellen zur Bildung des Androgen-Binding-Protein anregt. Darüberhinaus stimulieren die Androgene des adulten Hodens die Sekretion des Epididymis und sind für die Produktion wichtiger Bestandteile des Sekretes der akzessorischen Geschlechtsdrüsen verantwortlich (z.B. Fruktose und Zitronensäure). Schließlich ist ein bestimmter Androgenspiegel für die Aufrechterhaltung des männlichen Gepräges (z.B. anaboler Effekt auf die Muskulatur) notwendig (Leidl et al. 1982).

2.2.3.3. Struktur der fetalen Leydigzellen

Die Struktur der fetalen Leydigzellen wurde bei der Ratte (Lording u. de Kretser 1972), beim Meerschweinchen (Black u. Christensen 1969), dem Menschen (Pelliniemi u. Niemi 1969, Holstein et al. 1971), der Maus (Russo u. de Rosas 1971), dem Pferd (González-Angulo et al. 1971), dem Hamster (de Rosas u. Russo 1971, Gondos et al. 1974), dem Kaninchen (Gondos u. Conner 1972, Bjerregaard et al. 1974, Catt et al. 1975), dem Affen (Tseng et al. 1975) und dem Schwein (van Vorstenbosch et al. 1982) beschrieben.

Danach stimmt die Differenzierung der Leydigzellen der verschiedenen Spezies in wesentlichen Abläufen überein. Dennoch treten häufig Unterschiede in ihrer Struktur, insbesondere in der Form und Menge des endoplasmatischen Reticulums, auf.

Für die Entwicklung der fetalen Leydigzellen des Menschen wurde eine Einteilung in vier Phasen gewählt (Pelliniemi u. Niemi 1969, Holstein et al. 1971).

Die erste wird als Prädifferentiationsphase bezeichnet und dauert von der 5. bis 8. Schwangerschaftswoche.

Im Interstitium befinden sich lediglich undifferenzierte Mesenchymzellen in Form eines lockeren Netzverbandes. In der nachfolgenden Differenzierungsphase (8. bis 11. Woche p.c.) treten Leydigvorläuferzellen auf, die durch rundliche Form und große, runde Kerne gekennzeichnet sind. Daneben finden sich bereits unreife fetale Leydigzellen, die zahlreiche Glykogengranula, Mitochondrien vom Crista-Typ und vermehrt aER-Vesikel enthalten.

In der Reifungsphase (14. bis 18. Woche p.c.) besitzen die fetalen Leydigzellen ihr Maximum an Ausdehnung, sie sind voll differenziert. Diese Zellen schließen zahlreiche aER-Tubuli, Mitochondrien vom Tubulus-Typ und Lipidvakuolen in großer Zahl ein.

In der Rückbildungsphase (18. bis 40. Woche p.c.) tritt wiederum ein vesikuläres aER auf, daneben können Membranwirbel, Vakuolen, gequollene Mitochondrien und zahlreiche Zellen mit pyknotischen Kernen beobachtet werden.

Um den Zeitpunkt der Geburt schließt sich bei allen Säugern eine Regression der fetalen Leydigzellen an (Russo u. de Rosas 1971, Lording u. de Kretser 1972). Einzige Ausnahme ist das Meerschweinchen, dessen Leydigzellentwicklung kontinuierlich fortschreitet (Black u. Christensen 1969).

Van Straaten und Wensing (1978) differenzieren beim Schwein zwei Leydigzelllinien: die intertubulären Leydigzellen in den interstitiellen Räumen zwischen benachbarten Tubuli seminiferi und die peritubulären Leydigzellen, die direkt um die Hodenstränge gelagert sind. Während fetal die intertubulären Leydigzellen dominieren, bilden sie sich p.p. zurück, so daß die peritubulären Leydigzellen im adulten Hoden überwiegen.

2.2.3.4. Androgenproduktion der fetalen Leydigzellen

Aufgrund der Struktur der Leydigzellen (typische Zellorganellen der Steroidsynthese) und der zeitlichen Korrelation zwischen dem Erscheinen der Leydigzellen und

dem Auftreten eines messbaren Androgenspiegels (s. Tabelle S. 3) wurden die fetalen Leydigzellen als die Bildungsstätten des Androgens identifiziert (Russo u. de Rosas 1971, Lording u. de Kretser 1972).

Messungen des Androgenspiegels im Rinderfetus wurden von Karg und Struck 1966, Karg 1967, Kim et al. 1972, Challis et al. 1974, Kiser et al. 1975 und Mongkonpunya et al. 1975 durchgeführt.

Das hauptsächlich vom fetalen Rinderhoden produzierte Androgen ist das Testosteron, daneben wird auch Androstenedion gebildet. Das Verhältnis Testosteron zu Androstenedion verschiebt sich jedoch in Geburtsnähe zu Gunsten des Androstenedions (Karg u. Struck 1966).

2.2.3.5. Wirkungen des Testosterons der fetalen Leydigzellen

Das Testosteron ist für die Differenzierung sämtlicher Derivate des Wolff-Ganges (Epididymis, Vas deferens, Vesikulae seminales) verantwortlich.

Gleichzeitig ist es für die männliche Prägung des für das Sexualverhalten zuständigen Hypothalamusbereiches verantwortlich (Reznikov 1978).

Da die fetalen Leydigzellen das Androgen produzieren, kommt ihnen eine entscheidende Rolle in der Sexualdifferenzierung zu.

Allerdings muß für das Wirken des Testosterons eine Voraussetzung erfüllt sein: Es müssen Testosteronrezeptoren vorhanden sein. Diese Rezeptoren werden durch ein X-chromosomal gebundenes Gen, den sog. Tfm-Lokus, kodiert (Ohno 1977). Fehlt dieses Gen aufgrund eines genetischen Defektes, kann kein Testosteronrezeptor gebildet werden; das Individuum ist testosteronunempfindlich und entwickelt sich auch bei Vorliegen des XY-Genotyps zum weiblichen Phänotyp (testiculäres Feminisierungssyndrom).

2.2.3.6. Fetale Steuerung der Androgensekretion

Die Steuerung der Androgensekretion im fetalen Rinderho-

den unterliegt dem LH (i.e. ICSH). Dieses wird von der fetalen Hypophyse ausgeschüttet. Die Hypophyse des Muttieres ist nicht beteiligt, da LH die placentäre Schranke nicht überwinden kann (Kiser et al. 1975). Experimentell konnte durch Verabreichung eines Releasing-Hormones (LH-RH) eine LH-Ausschüttung und eine darauffolgende Synthese von Testosteron und Androstenedion beim explantierten Rinderfetus bewirkt werden (Kiser et al. 1975). Als Ursache für die Leydigzellregression wird die Drosselung der LH-Ausschüttung infolge des hohen Androgenspiegels vermutet (negatives feed back).

Einen Überblick über die prä- und postnatale Endokrinologie des Hodens, einschließlich des Androgensyntheseweges, vermitteln Leidl et al. (1982).

3. Material und Methodik

3.1. Untersuchungsmaterial

Als Untersuchungsmaterial dienten insgesamt 51 Hoden von fetalen Rindern unterschiedlicher Scheitel-Steiß-Längen (SSL).

Einen Überblick über das Untersuchungsmaterial gibt nachfolgende Aufstellung:

Embryonen mit SSL von 2,0-5,5 cm (insgesamt 20 Tiere)	Embryonen mit SSL von 5,6-9,5 cm (insgesamt 14 Tiere)
--	--

SSL/cm	Anzahl der Tiere	SSL/cm	Anzahl der Tiere
2,0	4	5,6	1
2,5	3	6,0	2
2,7	1	6,5	3
3,0	2	7,0	1
3,5	2	7,5	1
4,0	2	8,0	2
4,5	2	8,5	1
5,0	1	9,0	2
5,5	3	9,5	1

Embryonen m. SSL v. 10,5-21,0 cm (insgesamt 10 Tiere)	Feten mit SSL von 23,5-70,0 cm (insgesamt 7 Tiere)
--	---

SSL/cm	Anzahl der Tiere	SSL/cm	Anzahl der Tiere
10,5	1	23,5	1
11,0	1	26,0	1
12,5	1	28,0	2
13,0	1	46,0	1
13,5	2	47,0	1
16,0	1	70,0	1
16,5	1		
21,0	2		

3.2. Altersbestimmung

Die Zuordnung der SSL zum Alter der Feten wurde nach in der Literatur angegebenen Werten von Winters et al. (1942), Rüsse und Rüsse (1963), Vollmerhaus (1964) und Evans und Sack (1973) durchgeführt. In der nachfolgenden Tabelle 2 wurden die Angaben für den untersuchten Zeitraum zusammengefaßt.

Tabelle 2: Zuordnung der SSL zum Embryonalalter

Tage p.c.	SSL/cm	Tage p.c.	SSL/cm
37	1,8	120	27,1
40	2,28	130	30,0
45	3,08	138	31,2
50	3,85	140	32,6
55	4,67	150	36,8
60	6,6	159	40,0
70	9,4	160	43,7
75	10,0	170	48,5
90	16,4	185	54,0
100	18,8	200	58,5
108	20,0	204	60,0
110	24,0	215	70,0

Für die zur Untersuchung gelangten Präparate lagen die genauen Angaben nicht immer vor, deshalb wurden die Werte entsprechend den in der Tabelle angegebenen interpoliert.

3.3. Materialvorbereitung

Das Untersuchungsmaterial wurde von Rindern sofort nach der gewerblichen Schlachtung der Tiere entnommen und der nachfolgenden histologischen Präparations-technik zugeführt.

Untersuchungsproben der Embryonen bis zu einer SSL von 2,5 cm wurden ohne Eröffnung der Fruchthüllen in toto in einem Nährmedium (Tissue-Culture-Medium 199) bei 4°C aufgenommen und unverzüglich das Geschlecht nach der Eihaut-Sexchromatinbestimmung ermittelt.

Sämtliche Untersuchungsproben wurden für eine Stunde in 6%iger Glutaraldehydlösung (0,15 M Natrium-Cacodylatpuffer, pH 7,3, 310 mosmol) bei 4°C in situ fixiert, danach wurden die Keimdrüsen präparatorisch gewonnen und in Gewebelöcke mit 1 mm Kantenlänge geschnitten. Diese Teilstücke wurden für weitere drei

Stunden in oben genannten Fixierungslösung nachfixiert.

Nach Lagerung der Untersuchungsproben in Waschlösung (0,15 M Natrium-Cacodylatpuffer, pH 7,3, mit Zusatz von Saccharose, 310 mosmol, 4°C) wurden die Proben mit unterschiedlichen histologischen Darstellungstechniken weiterbehandelt.

3.4. Histologische Präparationsmethoden

3.4.1. Lichtmikroskopie

Die Untersuchungsproben wurden drei Stunden in 1%igem Osmiumtetroxyd (OsO_4) kontrastiert und in einer aufsteigenden Azetonreihe (50%, 70%, 90% und 100%) entwässert. Anschließend wurden sie in Araldit eingebettet.

Danach erfolgte die Polymerisation 24 Stunden bei 35°C und weitere 48 Stunden bei 45°C.

Mit dem Ultramikrotom (LKB Ultratom Typ 4801 A) wurden Semidünnschnitte von ca. 1µm Dicke hergestellt.

Die Semidünnschnitte wurden nach zwei unterschiedlichen Methoden gefärbt.

Für die Safraninrot-Methylenblau-Färbung wurden die Schnitte 30 Sekunden bei 90°C auf dem Strecktisch in einer Safraninlösung nach Fleming (1g Safranin in 100 ml 96%igem Alkohol gelöst und 50 ml Aqua bidest.) gefärbt, anschließend mit Aqua dest. gut abgespült und luftgetrocknet. Im zweiten Färbeschritt erfolgte eine Behandlung der Schnitte für 20 Sekunden bei 90°C auf dem Strecktisch in einer Methylenblau-Lösung (1g Methylenblau, 1g Dinatriumtetraborat, 40g Saccharose in 100 ml Aqua bidest. und 1-9 Tropfen Formol 35%ig). Anschließend wurden die Schnitte mit Aqua dest. gut abgespült und ebenfalls luftgetrocknet.

Die gefärbten Proben wurden mit Eukitt eingedeckelt.

Ein Teil der Schnitte wurde mit einer selektiv die Basalmembran anfärbenden Methode behandelt (Amselgruber 1983, in Vorb., pers.Mitteilung).

Die histologische Dokumentation erfolgte an einem Dialux 20 mit Varioorthomat (Fa.Leitz).

3.4.2. Elektronenmikroskopie

Die Kontrastierung, Entwässerung, Einbettung und Polymerisation des Gewebes erfolgte in der für die Lichtmikroskopie beschriebenen Weise (s. 3.4.1.).

Mit dem oben genannten Ultramikrotom wurden Ultra-dünnschnitte hergestellt; diese wurden mit 2%igem Uranylacetat und Bleicitrat nach Reynolds nachkontrastiert.

Die elektronenoptische Untersuchung der Schnitte erfolgte mit Elmiskop 101 (Fa.Siemens), die fotografische Dokumentation auf Agfa-Scienta G-9 Planfilmen.

Die Erklärung der verwendeten Abkürzungen in den Abbildungen und im Text befindet sich als herausklappbares Faltblatt am Ende des Kapitels "Befunde" (s. S. 109).

4. Befunde

Die Untersuchungsergebnisse zur Entwicklung des Hodens wurden in vier chronologisch aufeinander folgende Abschnitte unterteilt. Diese Gliederung erfolgte anhand der Keimzellentwicklung, da hier eine Häufung übereinstimmender struktureller Merkmale innerhalb bestimmter Entwicklungsgrößen der Feten (in SSL) zu beobachten war. Die Grenzen der vier Entwicklungsabschnitte sind infolge des individuell unterschiedlichen Reifegrades fließend.

Diese Unterteilung wurde sinnvollerweise auch für die Differenzierung der Sertolizellen und Leydigzellen beibehalten. Eine exakte Zuordnung zu diesen Gruppen erscheint trotz geringfügig andersartig ablaufender Differenzierungsprozesse noch möglich.

4.1. Entwicklungsabschnitt I:

Embryonen mit SSL von 2,0 - 5,5 cm
(ca. 39. - 58. Tag p.c.)

4.1.1. Lichtmikroskopische Befunde

Bei den jüngsten der untersuchten Embryonen erscheint die indifferente Gonadenanlage als in die Coelomhöhle vorspringender, jederseits medial der Urniere gelegener, bohnenförmiger Mesenchymwulst, der durch ein breites dorsales Mesenterium gehalten wird. Er ist vom Coelomepithel bedeckt, das aus, bezüglich der Oberfläche, unterschiedlich orientierten Zellen mit länglichen oder runden Kernen besteht. Eine definierte Fußungslinie dieser Zellen ist im Lichtmikroskop noch nicht zu erkennen. Die Zellen erscheinen mehrreihig (Abb. 1).

Es ist noch keine Tunica albuginea vorhanden, nur vereinzelte spindelförmig abgeflachte Zellen stellen die ersten Anzeichen für ihre Bildung dar (Abb.1a spM).

Das gesamte Gonadeninnere besteht in der Übersicht aus einem Netz polygonaler Zellen, die in den Randzonen locker gelagert sind. Im Zentrum ist der Zellverband dichter. Hier lassen sich Zellaggregationen aus wenigen großen runden Zellen, sehr vielen unregelmäßig geformten kleineren, etwas dunkleren und schließlich sehr dunklen Zellen mit großen dunklen Kernen erkennen. (Abb.1a Kz,Mz)

Vor allem in der Nähe des Mesenteriums befinden sich großlumige Kapillaren mit kernhaltigen Erythroblasten.

Zuweilen sind die ersten Anzeichen für die Bildung eines Hodens - die noch dünne Tunica albuginea und die ersten Zellaggregationen zu Strängen - bereits bei Embryonen mit 2,0 cm SSL vorhanden (Abb.2 Kst). Bei diesen im Vergleich zum oben erwähnten indifferenten Stadium schon weiter differenzierten Embryonen ist die Gonade bereits wesentlich größer.

(Abb.2)

Das Oberflächenepithel besteht zunächst aus einem einschichtigen, hochprismatischen Epithel mit oberflächenwärts gelegenen, z.T. sich vorwölbenden Kernen, die sehr unterschiedlich geformt sind und fast das ganze Zytoplasma ausfüllen. Sie fußen mit langen, sehr schmalen Zytoplasmaausläufern auf einer Linie. Diese Zytoplasmaausläufer sind durch weite Interzellularräume voneinander getrennt. (Abb.2)

Mit zunehmendem Entwicklungsalter wird das Epithel

isoprismatisch, es besteht aus nebeneinander aufgereihten, epitheloiden Zellen mit großen, runden Kernen, die sich stellenweise abflachen (Abb. 3 Ke).

Die Tunica albuginea entsteht zunächst aus einer Zone locker geschichteter Mesenchymzellen, die zur Oberfläche hin stachelzellartig, tiefer zum Gonadenzentrum hin spindelförmig sind (Abb. 2 und 3, Ta).

Die spindelförmigen Zellen, als Fibroblasten anzusprechen, besitzen einen länglichen Kern und sind parallel zur Gonadenoberfläche angeordnet. Sie stehen über lange Zytoplasmafortsätze in Längsrichtung in Kontakt. Ihre Anzahl und die Dichte der Schichtung nimmt mit zunehmendem Alter zu. Am Ende dieser Entwicklungsphase bilden sie deutliche, in die Tiefe ziehende Septen (Abb. 3 und 4, Sep).

Die tieferen Schichten der Tunica albuginea sind reich an Blutgefäßen. In der Nähe der Kapillaren treten häufig polygonale, relativ dunkle Zellen mit runden Kernen auf, die als aktivierte Kapillarendothelien anzusprechen sind.

Sowohl im Oberflächenepithel als auch in der Tunica albuginea finden sich vereinzelt große helle Zellen, verstreute Keimzellen.

Die ersten Zellaggregationen zu primitiven Strängen als Vorläufer der Tubuli treten, wie oben bereits erwähnt, bei Embryonen mit 2,0 cm SSL zunächst als zirkuläre Zone unter der sich gleichzeitig bilden den Tunica albuginea auf (Abb. 2 Kst), dringen jedoch bald ins Gonadeninnere vor (Abb. 3 T).

In den Strängen lassen sich zwei Zellpopulationen unterscheiden: polygonale Zellen mit unregelmäßig

geformten Kernen in großer Zahl - die fetalen Sertolizellen - und wenige runde Zellen mit etwas größeren runden Kernen, die Keimzellen (Abb.4 Kz, Sz). Während sich die Tubuluszellen zunächst mit Methylenblau einheitlich anfärben, erscheinen die Keimzellen mit zunehmendem Entwicklungsalter heller, sind bald deutlich größer als die Sertolizellen und heben sich nun von den dunkleren Sertolizellen ab. Ihre Zahl nimmt deutlich zu. Sowohl innerhalb der Sertolizellpopulation als auch innerhalb der Keimzellpopulation lassen sich hellere und dunklere Zellen unterscheiden.

Das Interstitium verändert sich in dieser frühen Phase auffallend schnell. Während es zu Beginn aus locker angeordneten, polygonalen Zellen mit großen, fast das gesamte Zytoplasma ausfüllenden Kernen, einigen abgeflachten, der Tubuluswand anliegenden Mesenchymzellen und kleineren, verstreut liegenden Kapillaren besteht, füllen große polygonale Zellen mit unregelmäßigen Kernen bei Embryonen ab 3,0 cm SSL fast den gesamten interstitiellen Raum aus. (Abb.3 und 4, Lz). Sie färben sich insgesamt etwas stärker als die Tubuluszellen und besitzen in ihrem Zytoplasma entweder zahlreiche dunkelbraune Granula (Abb.4, Gr) in verschiedener Größe oder dieselben herausgelöst und sich nun als Vakuolen darstellend. Diese Zellen sind die fetalen Leydigzellen.

Die spindelförmig abgeflachten Zellen, die der Tubuluswand anliegen, nehmen an Zahl zu und können nun als Fibroblasten bezeichnet werden.

Gegen Ende dieser Entwicklungsphase haben die Leydigzellen so stark an Zahl und Ausdehnung zuge-

nommen, daß aus dem locker zwischen die Tubuli eingelagerten Mesenchymnetz ein dichter Zellverband entstanden ist, dessen Gesamtfläche auf fast das Doppelte der Tubulusgesamtfläche angestiegen ist.

Innerhalb des Interstitiums sind zahlreiche Kapillaren vorhanden.

Im Gonadenzentrum entsteht währenddessen das Rete testis. Es besteht aus weniger stark gewundenen, schmalen, teilweise konfluierenden Tubuli, die fast ausschließlich mit mesenchymalen Zellen angefüllt sind, sehr vielen außen der Basalmembran anliegenden Fibroblasten und aus einem dazwischen liegenden, lockeren Mesenchymnetz mit zahlreichen Kapillaren. Leydigzellen fehlen in diesem Bereich. (Abb.3 Rt)

4.1.2. Die Ultrastruktur des Oberflächenepithels

Das Coelomepithel besteht aus einer zunächst mehrreihigen, dann einreihigen Zellschicht, deren Zellen ihre Form in Abhängigkeit vom SSL-Alter von hochprismatisch über kubisch bis abgeflacht ändern. (s.Kap.Lichtmikroskopische Befunde)

Zunächst sind die Zellen hochprismatisch und fußen auf einer noch diskontinuierlichen Basalmembran. An ihrer Oberfläche befinden sich mikrovilliartige Zytoplasmaausstülpungen, die häufig Ribosomen enthalten. Im Schnittbild stellen sie sich z.T. als freie Körper dar (Abb.5*).

Die Zellen sind durch zahlreiche gut ausgebildete Schlußleisten verbunden (Abb.5 und 6, Zo).

Die Kerne sind groß, unregelmäßig geformt oder oval und liegen in Längsrichtung im Zytoplasma. Das Chromatin ist unregelmäßig flockig.

Pro Schnittfläche treten ein bis drei prominente Nukleolen auf. Sie bestehen meist nur aus Pars amorpha und sind häufig der Kernmembran angelagert.

Das Zytoplasma ist locker granuliert und enthält relativ spärliche Organellen.

Die Mitochondrien sind länglich oder rund und besitzen in eine dunkle Matrix eingelagerte, z.T. unregelmäßig erweiterte Cristae (Abb.5 cm).

Das endoplasmatische Reticulum besteht aus wenigen kurzen ribosomalen Zisternen mit elektronenoptisch dichtem Inhalt (Abb.5).

Freie Ribosomen liegen nur in geringer Zahl vor.

Der Golgi-Apparat stellt sich als kleiner, deutlich ausgebildeter Stapel aus Membransäckchen und Vesikeln

dar (Abb.5 G).

Vereinzelte finden sich Lysosomen und Lipoid einschüsse im Zytoplasma.

Während sich an der Ausbildung der Organellen wenig verändert, erfährt die Form der Zelle und ihre Oberfläche eine starke Veränderung. Die oben erwähnten Zytoplasmaausstülpungen sind bereits bei einer SSL von 2,5 cm wieder verschwunden (Abb.6).

Die Zelle verliert ihre Säulenform und wird keilförmig: Die großen Kerne füllen den Hauptteil des an der Gonadenoberfläche gelegenen Zelleibes aus, der basale Zytoplasmateil wird zum schlanken, sich in Richtung Basalmembran verjüngenden Zytoplasmaausläufer. Zwischen den "Zytoplasma-Füßen" befinden sich große, freie Interzellularräume. Mit zunehmender SSL wird der "Zytoplasma-Fuß" der Epithelzellen kürzer: die Zellen erhalten hochprismatische Form.

In Abhängigkeit von der SSL verwandeln sie sich in ein abgeflachtes Deckepithel mit ovalen, längs zur Oberfläche orientierten Kernen.

Die strukturelle Entwicklung dieser Zellen ist gegen Ende dieses Stadiums im wesentlichen abgeschlossen, daher wird die Beschreibung der nachfolgenden Stadien auf lichtmikroskopische Befunde beschränkt.

4.1.3. Die Ultrastruktur der Tunica albuginea

Die Tunica albuginea besteht aus einer mit zunehmender Entwicklung des Embryos breiter werdenden Schicht aus Fibroblasten, Kollagenfasern, vor allem in den tieferen Schichten gelegenen Blutgefäßen und vereinzelt, versprengten Keimzellen (Abb.6, Fb).

Die Fibroblasten sind spindelförmige Zellen mit länglichen Kernen, die von einem schmalen Zytoplasmaumgeben sind. Sie stehen über lange, vor allem in Längsrichtung orientierte Zytoplasmaausläufer in Verbindung. Gelegentlich sind diese Ausläufer über gap junctions miteinander verbunden.

Die Kerne sind meist locker und unregelmäßig granuliert. Sie besitzen mehrere kleine amorphe, exzentrisch gelagerte Nukleolen.

Das Zytoplasma ist ebenfalls locker granuliert und enthält nur wenige Zellorganellen.

Die Mitochondrien sind oval oder länglich und besitzen Cristae.

Das endoplasmatische Reticulum besteht aus wenigen kurzen ribosomalen Zisternen, die mit elektronenoptisch dichtem Inhalt gefüllt sind.

Im Zytoplasma befinden sich eine beträchtliche Anzahl freier Ribosomen, ferner einige osmiophile Lysosomen und gelegentlich Glykogengranula.

Zwischen den Fibroblasten befinden sich in zunehmendem Maße Kollagenfibrillen, die im Schnittbild meist quer oder schräg getroffen sind.

In der weiteren Entwicklung nimmt der Anteil der Fibroblasten zu Gunsten der Kollagenfasern ab, an der Ultrastruktur der einzelnen Zelle treten jedoch keine wesentlichen Veränderungen auf. Aus diesem Grunde wurde die Beschreibung im weiteren auf die lichtmikroskopischen Befunde beschränkt.

4.1.4. Die Ultrastruktur der Keimzellen

Bis zu einer SSL von 4,4 cm findet die Bildung solidier Keimstränge und der sie begrenzenden Basalmembran ihren Abschluß. Bis zu diesem Entwicklungsstadium liegen die Keimzellen im lockeren Netz undifferenzierter Zellen der mesenchymalen Gonadenanlage, seltener aber auch im Bereich des Oberflächenepithels und der Tunica albuginea.

Die Keimzellen liegen in den weiten Interzellularräumen des Mesenchymnetzes. Meist stehen sie in enger Beziehung zu einer oder mehreren Mesenchymzellen. Diese Kontaktflächen können aus nur geringgradigen, durch Desmosomen verstärkten Verbindungen bestehen, teilweise jedoch sind diese extrem großflächig ausgebildet, wodurch vielfach das Bild einer Umklammerung der Keimzelle durch Mesenchymzellen entsteht (Abb.7 Kz,P-Sz).

In Präparaten mit bereits vorhandenen Keimsträngen liegen die Keimzellen sowohl im Tubuluszentrum als auch in der Peripherie, z.T. schon in Kontakt mit der Basalmembran.

Die Keimzelle stellt sich in diesem frühen Stadium der fetalen Keimdrüsenentwicklung als eine rundliche Zelle dar, deren durchschnittliche Zellgröße 9,3 μm beträgt.

Der Zellkern ist rund bis leicht oval und erscheint im Verhältnis zum Zytoplasma relativ groß. Seine durchschnittliche Größe beträgt 6,8 μm . Die Lage des Zellkernes innerhalb des Zytoplasmas ist leicht exzentrisch.

Die Kernmembran stellt sich als von Poren unterbrochene perinukleäre Zisterne dar.

Der Kern schließt bevorzugt Euchromatinabschnitte ein,

die locker und fein granuliert erscheinen. Darin eingelagert sind in nur geringer Zahl kleinere Heterochromatinbezirke in diffuser Verteilung, z.T. kondensiert an Nukleolen.

In einigen Zellen wurde nuageähnliches Material im Zellkern beobachtet. Es handelt sich dabei um eine Anhäufung elektronenoptisch dichter, sehr feiner Granula.

In wenigen Fällen ist der Heterochromatingehalt des Kernes vermehrt. Diese Zellen besitzen dann auch ein geringfügig dichteres Grundplasma, so daß diese Zellen ein verhältnismäßig dichter Gesamteindruck kennzeichnet.

Die Keimzellen dieser Entwicklungsphase beinhalten durchschnittlich zwei bis vier meist kleine Nukleolen. Sie liegen leicht exzentrisch und bestehen aus Pars amorpha und Pars filamentosa. Das Grundplasma der Zelle ist feingranuliert, seine Dichte entspricht den umliegenden Zellen. Allerdings treten auch einige Keimzellen mit deutlich dichterem Grundplasma auf (vgl. oben), die sich dadurch auch stärker von den umliegenden Mesenchymzellen abheben.

Die Zellorganellen sind in geringer Zahl vertreten.

Die Mitochondrien, die über das ganze Zytoplasma gleichmäßig verteilt angeordnet sind, weisen runde Form auf. Ihre Innenstruktur besteht aus Tubuli, die sich deutlich von der elektronendichten Matrix abheben (Abb. 7 tM). Vereinzelt sind auch Mitochondrien vom Crista-Typ anzutreffen.

Das Golgifeld, häufig an einem Kernpol eine ganze Zytoplasmazone einnehmend (Abb. 7 G), besteht aus mehreren kleinen benachbart liegenden Anhäufungen von Vesikeln und Tubuli. In einigen Zellen befin-

den sich kleine unregelmäßig geformte, stark osmiophile Einschlüsse in enger Nachbarschaft des Golgifelddes (Abb.7 oE).

Das endoplasmatische Reticulum der Keimzellen tritt in Form von wenigen kurzen, unregelmäßig verteilten rER-Schläuchen auf. Das Lumen der Schläuche ist mit mäßig elektronendichtem Inhalt angefüllt. In einigen Zellen liegen auch sehr lange, flache rER-Zisternen vor.

Zusätzlich zu den an die ER-Zisternen angelagerten Ribosomen tritt im Zytoplasma eine Vielzahl von freien Ribosomen auf, die z.T. zu rosettenförmigen Polyribosomen zusammengelagert sind.

In den Keimzellen treten regelmäßig kleinvakuoläre Einlagerungen von Lipiden, jedoch in unterschiedlicher Menge und Dichte innerhalb der Keimzellen, auf (Abb.7 Li).

Vereinzelte findet man auch Zellen mit mehreren Vakuolen, die mit flockigem, teilweise membranärem Inhalt gefüllt sind.

Glykogen tritt in dieser frühen Entwicklungsphase in den Keimzellen nicht auf.

In einigen Fällen wurden unregelmäßig geformte, elektronendichte Einschlüsse beobachtet, die als Myelinkörper angesprochen werden können.

Neben primären Lysosomen finden sich vereinzelt membranbegrenzte Einlagerungen mit stark osmiophilen Granula.

Die Zahl der Keimzellen ist in dieser frühen Entwicklungsphase gering. Mitosen von Keimzellen sind am Anfang dieses Stadiums selten, gegen Ende jedoch recht häufig. Degenerierende Keimzellen wurden nicht beobachtet.

4.1.5. Die Ultrastruktur der Sertolizellen

Wie schon im Abschnitt Keimzell-Ultrastruktur beschrieben, findet in diesem Bereich die Bildung der Keimstränge statt. Dadurch liegt in einigen Präparaten noch ein lockeres Maschennetz aus Mesenchymzellen und vereinzelt, verstreuten Keimzellen vor, während in anderen bereits Tubuli mit Präsertolizellen ausgebildet sind.

So lange noch keine Tubuli vorliegen, unterscheiden sich die potentiellen Sertolizellen nach morphologischen Kriterien nicht von den übrigen Mesenchymzellen. Nur aufgrund der oben geschilderten Lokalisation ("Umklammern" der Keimzellen) können einige Zellen als Sertolizellvorläufer angesprochen werden (Abb.7 P-Sz). Die Sertolivorläuferzellen sind polygonale bis sternförmige Zellen mit wenigen uncharakteristischen Zellorganellen, die über lange Zytoplasmafortsätze miteinander in Kontakt stehen, weite Interzellularräume freilassend. Gelegentlich finden sich desmosomenähnliche Zellverbindungen an den Kontaktstellen zwischen den Zellen.

Die Kerne sind rundlich bis polygonal, seltener mit kleinen Einkerbungen. Das Karyoplasma ist locker granuliert, an der Kernmembran befindet sich eine geringe Menge kondensierten Chromatins und pro Schnittbild mindestens ein marginal kondensiertes Heterochromatinaggregat.

Es treten meist mehrere Nukleolen auf, die vor allem kompakte Strukturen, seltener jedoch auch Netzstrukturen aufweisen. Ihre Lage ist exzentrisch. Häufig stehen sie mit der Kernmembran in

Verbindung, z.T. sind sie in ein Heterochromatin-aggregat eingelagert.

Das Zytoplasma ist locker granuliert und enthält wenige undifferenzierte Organellen.

Die Mitochondrien sind rundlich bis länglich-"zigarrenförmig" mit Crista-Innenstruktur. Sie sind unregelmäßig im Zytoplasma verstreut.

Das Golgifeld ist sehr klein und undifferenziert.

Auch das endoplasmatische Reticulum ist nur in geringer Menge vorhanden. Es handelt sich um kurze bis mittlere Zisternen, die dicht mit Ribosomen besetzt sind. Ihr Lumen ist mit einer mäßig elektrodichten Matrix gefüllt. Gelegentlich finden sich spiralgig angeordnete ER-Zisternen oder Zisternen, die sich um Mitochondrien legen.

Neben den an ER gebundenen Ribosomen treten im Zytoplasma viele freie Ribosomen auf, die häufig zu Rosetten zusammengelagert sind.

Glykogen kommt nur vereinzelt und in relativ geringer Menge vor (Abb.7 Gl). Ebenso treten Lipidvakuolen nur in wenigen Zellen auf, wogegen die Keimzellen fast immer Lipide enthalten (s. Kap. Keimzellen).

Bei der Bildung der Tubuli findet eine schnelle Differenzierung der in ihnen befindlichen Sertolivorkläuferzellen zu fetalen Sertolizellen statt.

Die Gestalt dieser Zellen ist gedrunken, die langen Zytoplasmaausläufer sind weitgehend verschwunden. Teilweise bilden sie bereits einen dichten Zellverband mit nur wenigen Interzellularspalten, der von einer noch diskontinuierlichen Basalmembran umgeben wird. Die Zellen liegen ohne Orientierung in einer bestimmten Achse zur Basalmembran. Die oben erwähnten desmosomenähnlichen Verbindungen lassen sich innerhalb des Tubulus nicht mehr verfolgen. (Abb.8).

In einigen Präparaten ab einer SSL von 4,4 cm sind bereits fetale Sertolizellen verschiedener Dichtegrade ausgebildet, die sich aufgrund des Karyoplasmas, des Heterochromatinanteiles und der Dichte des Zytoplasmas unterscheiden.

Die Kerne der fetalen Sertolizellen im neugebildeten Tubulus sind zunächst rund-oval, werden dann jedoch stärker polygonal bis teilweise stark eingefaltet. Sie liegen zentral oder leicht exzentrisch im Zytoplasma. Der Kernmembran ist eine geringe Menge Heterochromatin aufgelagert, die im Schnittbild den Eindruck eines "dicht" umrandeten Zellkernes entstehen läßt.

Das Karyoplasma ist zunächst bei allen Zellen unregelmäßig locker und enthält nur wenige Heterochromatinbezirke. Bei den später auftretenden "dunklen" Sertolizellen ist das Karyoplasma sehr dicht, der Heterochromatinanteil höher.

Die Nukleolen unterscheiden sich zunächst nicht von denen der oben beschriebenen Sertolivorläuferzellen, nehmen dann jedoch in Größe und Anzahl zu. In einigen Zellen ist der Anteil der Pars filamentosa stärker ausgeprägt, in anderen herrscht die Pars amorpha vor. Häufig stehen die Nukleolen über Heterochromatin mit der Kernmembran in Kontakt.

Das Zytoplasma ist zunächst bei allen Sertolizellen locker granuliert. Bei den später entstehenden "dunklen" Sertolizellen ist es jedoch dicht und fein granuliert, während es bei den "hellen" Sertolizellen locker bleibt.

Die Mitochondrien besitzen runde oder "tubulusähnliche" Formen und sind vom Crista-Typ. Ihre Zahl nimmt zu. Sie sind im ganzen Zytoplasma zwischen den ER-Zisternen verstreut.

Der Golgi-Apparat ist immer noch klein und besteht aus wenigen Membransäckchen und Vesikeln.

Das endoplasmatische Reticulum nimmt stark an Ausdehnung zu. Während es zunächst noch als kurze oder mittellange oder als sehr lange flache rER-Zisterennen vorliegt, die teilweise maschennetzartig verzweigt sind (Abb. 8 rER) oder Mitochondrien umgeben, herrscht mit zunehmender Entwicklung die Spiralform oder parallele Anordnung vor. Immer handelt es sich um rER, dessen Ribosomenbesatz jedoch von oligogranulär bis dicht mit Ribosomen besetzt variieren kann.

Im Zytoplasma liegen zahlreiche freie, meist rosettenförmig angeordnete Ribosomen.

Glykogen tritt nicht auf, Lipide nur sehr vereinzelt.

Gelegentlich findet sich ein osmiophiler multivesikulärer Körper im Zytoplasma.

Ferner treten häufig Lysosomen auf, die z.T. rundlich sind, z.T. einen Hohlraum beinhalten, so daß sie "siegelringähnliche" Gestalt annehmen.

In dieser Phase können viele Mitosen der fetalen Sertolizellen beobachtet werden (Abb. 8 Mto).

4.1.6. Die Ultrastruktur der Basalmembran des Tubulus seminiferus

In diesem frühen Stadium findet die Bildung der die Tubuli umgebenden Basalmembran statt.

Schon bei Embryonen mit 2,0 cm SSL ist die Basalmembran bruchstückhaft in enger räumlicher Beziehung zu den Sertolivorläuferzellen zu erkennen. Je älter die Embryonen werden, desto länger werden die kontinuierlichen Abschnitte der Basalmembran. Gegen Ende dieser Phase umgibt die Basalmembran durchgehend die Tubuli seminiferi. Sie stellt sich als eine sehr dünne Lamina dar (Abb.7 Bm) und wird schon bald nach ihrer Bildung von Kollagenfibrillen unterlagert (Abb.7 Kf).

4.1.7. Die Ultrastruktur der Leydigzellen

Bei Embryonen zwischen 2,0 und 3,0 cm SSL sind bereits Zellaggregationen zu Tubuli zu erkennen, während im Interstitium fast nur kleine polygonale, undifferenzierte Mesenchymzellen vorliegen (Abb.8 Mz).

Dazwischen finden sich gelegentlich Zellen mit etwas größerem Kern, einem oder mehreren prominenten, meist netzartigen Nukleolen und großem, abgerundetem Zelleib. Ihre Mitochondrien, das ER und der Golgiapparat sind vermehrt. Gelegentlich sind Lipoideinschlüsse zu beobachten. Diese Zellen sind die jüngsten Formen der Leydigzellen.

Ab einer SSL von 3,0 cm ist das Interstitium, das sich nun als Zwickel zwischen den neu gebildeten Tubuli darstellt, von Inseln großer polygonaler Zellen ausgefüllt. Diese sind nun deutlich als fetale Leydigzellen zu erkennen. Sie liegen beinahe lückenlos aneinander. Ihr Zytoplasma greift an manchen Stellen fingerförmig ineinander, an anderen Plasmalembbereichen sind die Leydigzellen durch desmosomenähnliche Verbindungen und gap junctions, letztere allerdings seltener, verknüpft (Abb.9).

Die Kerne der Leydigzellen sind groß, rund oder eckig, gelegentlich auch stark eingekerbt. Ihre Lage im Zytoplasma ist leicht exzentrisch. Der Kernmembran ist ein Streifen marginal kondensierten Chromatins angelagert, öfter auch mindestens ein Heterochromatinaggregat (Abb.9 Hc).

Die perinukleäre Zisterne ist deutlich ausgebildet und von unregelmäßigen Poren unterbrochen. Das Karyoplasma ist flockig und insgesamt dicht. Einige Leydigzellen sind jedoch heller, ihre Kerne

sind weniger dicht.

Die Leydigzellen besitzen mindestens einen, meist jedoch mehrere große, prominente Nukleolen. Sie sind häufig an die Kernmembran angelagert, immer liegen sie jedoch exzentrisch im Karyoplasma. Auffällig ist ihre deutliche Netzstruktur, in deren Maschen die Pars amorpha eingelagert sein kann. Gelegentlich ist auch ein Heterochromatinaggregat an den Nucleolus ankondensiert. (Abb.9 N1).

Das Zytoplasma der Leydigzellen erscheint in den einzelnen Zellen unterschiedlich dicht: neben helleren Leydigzellen mit lockerem Grundplasma und etwas weniger freien Ribosomen finden sich auch dunklere Leydigzellen mit dichter granuliertem Zytoplasma, in das mehr Ribosomen eingelagert sind. Die Zuordnung einer bestimmten ER-Form zu den helleren bzw. dunkleren Leydigzellen ist nicht möglich.

Die Mitochondrien sind unregelmäßig im Zytoplasma verstreut. Es sind mäßig viele. Ihre Form ist rund, oval oder länglich. Die Innenstruktur besteht aus deutlichen Cristae, die in eine elektronenoptisch helle Matrix eingelagert sind. Gelegentlich sind lamellenartig geschichtete Myelinkörper in den Mitochondrien enthalten.

Der Golgi-Apparat stellt sich als Komplex aus meist mehreren kleinen Membranstapeln und Vesikeln dar, die zwischen den zahlreichen ER-Vesikeln wenig auffallen. Meist liegt der Golgi-Komplex in Kernnähe.

Das endoplasmatische Reticulum ist das beherrschende Zellorganell der Leydigzellen. Es besteht aus zahllosen kleinen Vesikeln und kurzen Tubuli, die z.T. oligogranulär, z.T. dicht mit Ribosomen besetzt sind.

Die Menge der Ribosomen ist unterschiedlich. Die helleren Leydigzellen besitzen weniger, die dunkleren Leydigzellen sehr viele Ribosomen im Zytoplasma.

Ein auffälliger Zellbestandteil sind die zahlreichen kleinvakuolären Lipoideinschlüsse, die dicht aneinander gelagert sind (Abb.9 Li).

Häufig sind vor allem in den dunkleren Leydigzellen Myelinkörper, die entweder frei im Zytoplasma liegen oder sich gelegentlich in Mitochondrien befinden. (Abb.9 My).

Zytosomen treten in großer Zahl auf. Es handelt sich um stark osmiophile, unregelmäßig geformte Gebilde.

Glykogen ist in den Leydigzellen nicht vorhanden.

Abb.1:

Gonadenanlage in enger
Verbindung zur Urniere
(SSL 2,0 cm, ca.39.Tag p.c.)
x 220

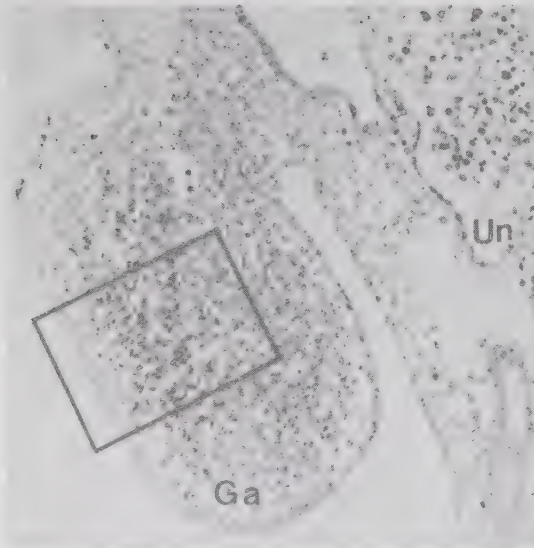
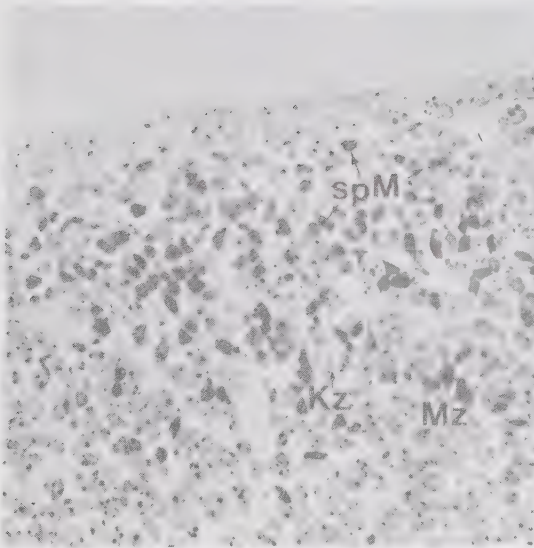


Abb.1a:

Ausschnittsvergrößerung
aus Abb.1
x 550



Die Erklärung der in den nachfolgenden Abbildungen verwendeten Abkürzungen befindet sich als herausklappbares Faltblatt am Ende des Kapitels "Befunde" (s.S.109).



Abb.2: Gonadenanlage (SSL 2,0 cm, ca.39.Tag p.c.)
x 160

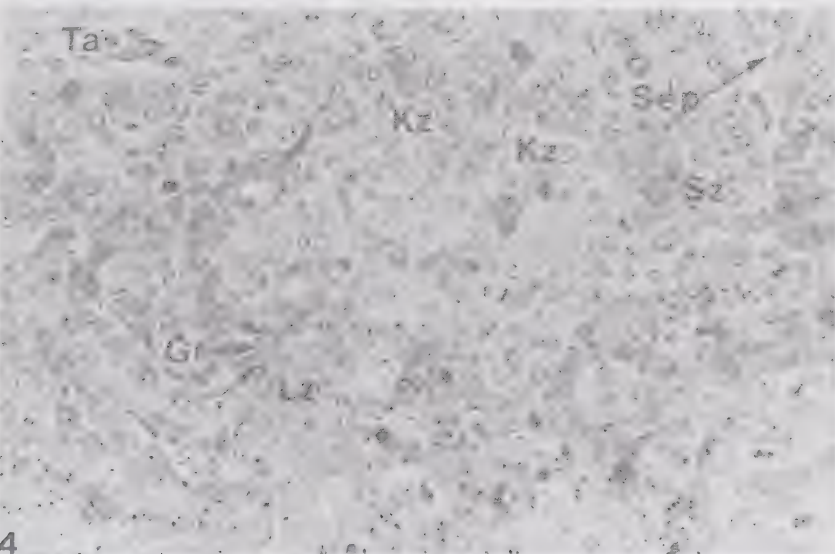
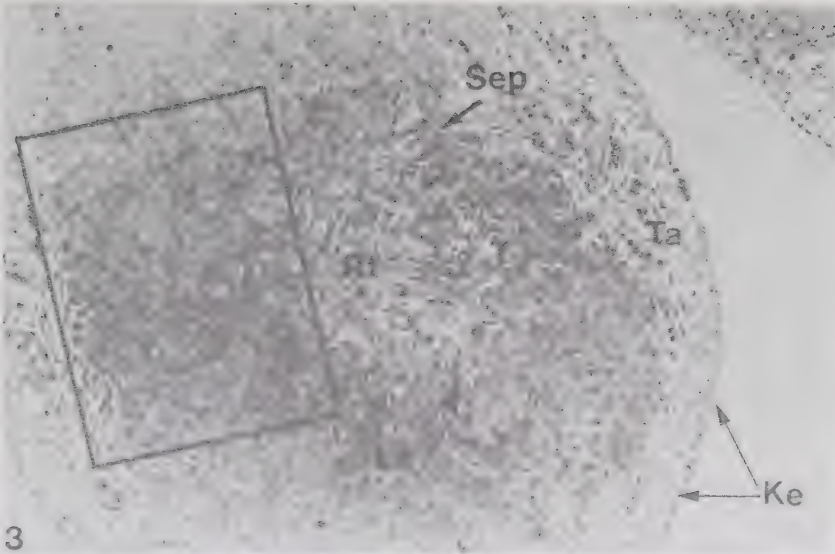


Abb.3: Hoden eines Embryonen mit SSL 3,1 cm (ca.45.Tag p.c.) x 200

Abb.4: Ausschnittsvergrößerung aus Abb.3 x 800

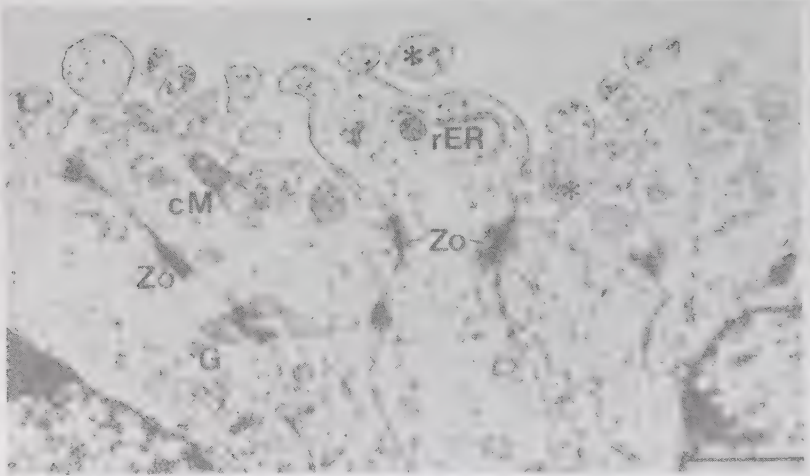


Abb.5: Ausschnittsvergrößerung aus Keimdrüsenepithelzellen mit deutlichen Schlußleisten (SSL 2,0 cm, ca.39.Tag p.c.)

Zo = Zonula occludens

* = mikrovilliartige Zytoplasmaausstülpung

Die Meßlinie am unteren Bildrand entspricht in sämtlichen Abbildungen einer Länge von 1 μ m.

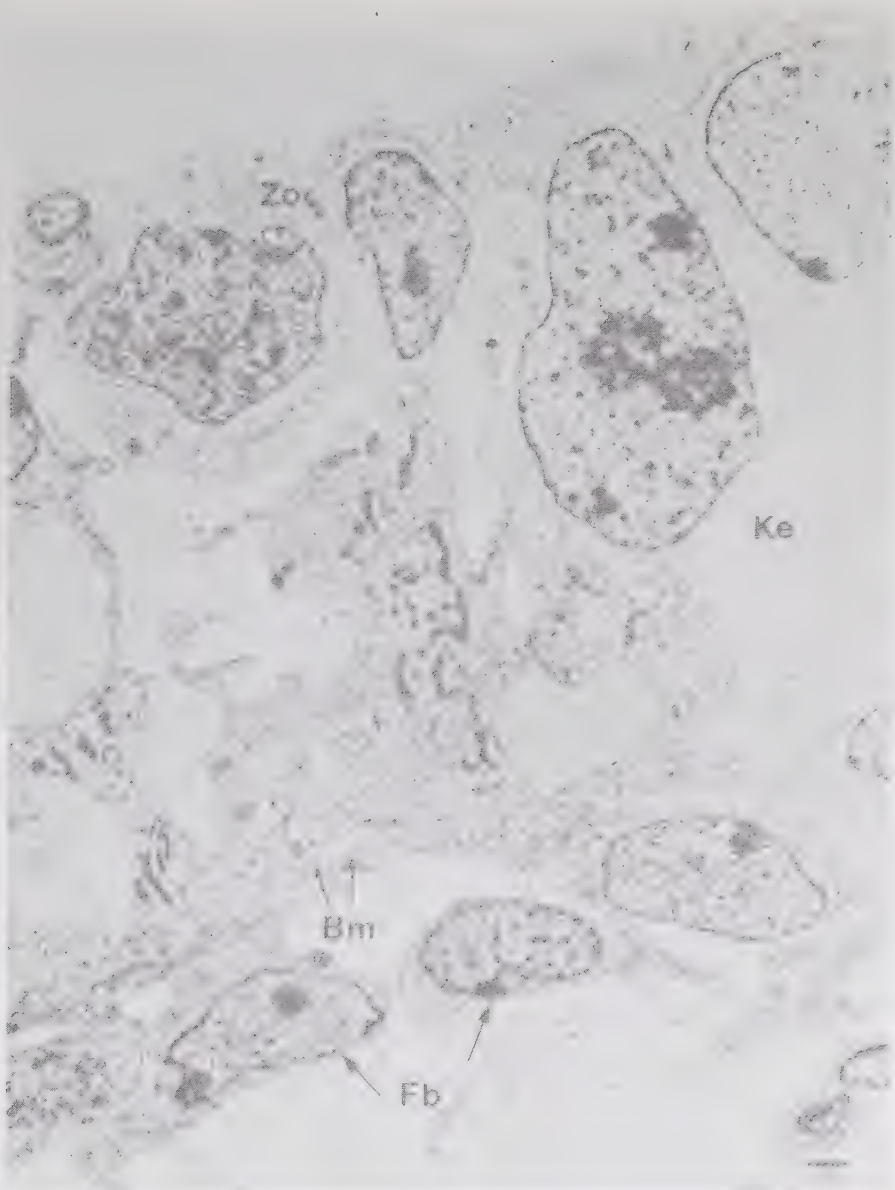


Abb.6: Ausschnittsvergrößerung aus dem Oberflächenepithel der Keimdrüse mit Fibroblasten der Tunica albuginea (SSL 2,7 cm, ca.44.Tag p.c.)

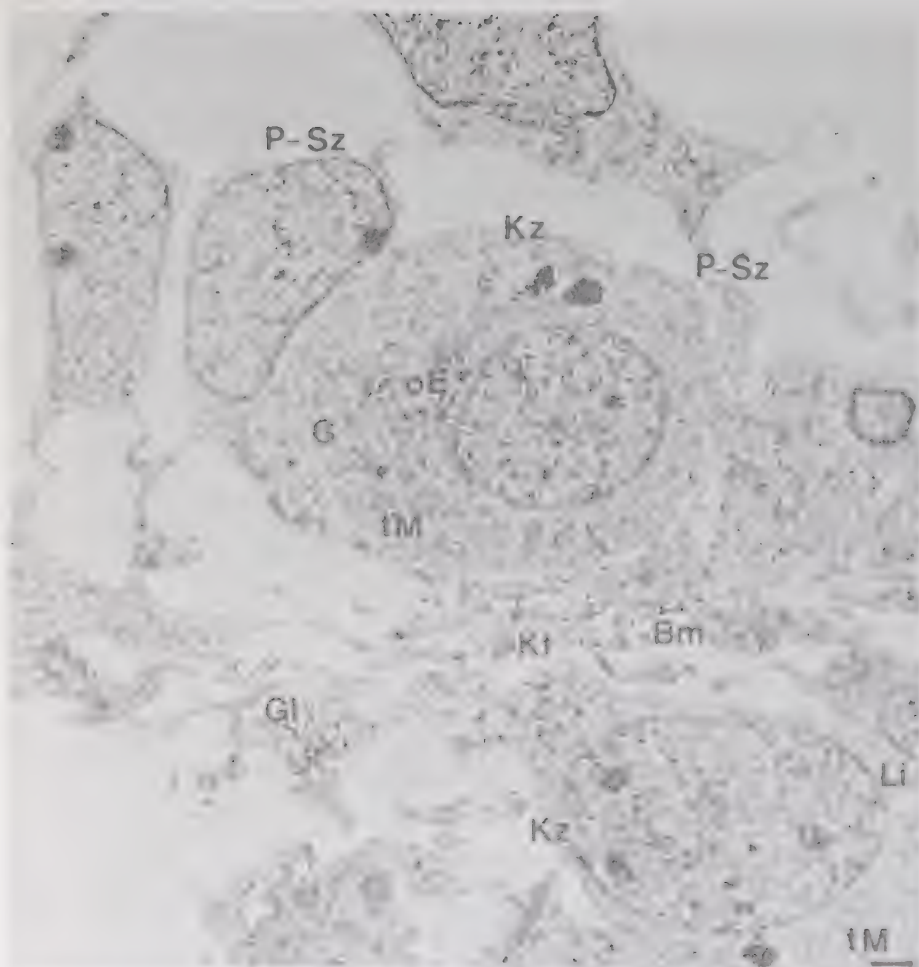


Abb.7: Keimzelle der noch indifferenten Gonade, in enger Nachbarschaft zu einer Sertolivorläuferzelle (SSL 2,7 cm, ca.44.Tag p.c.)

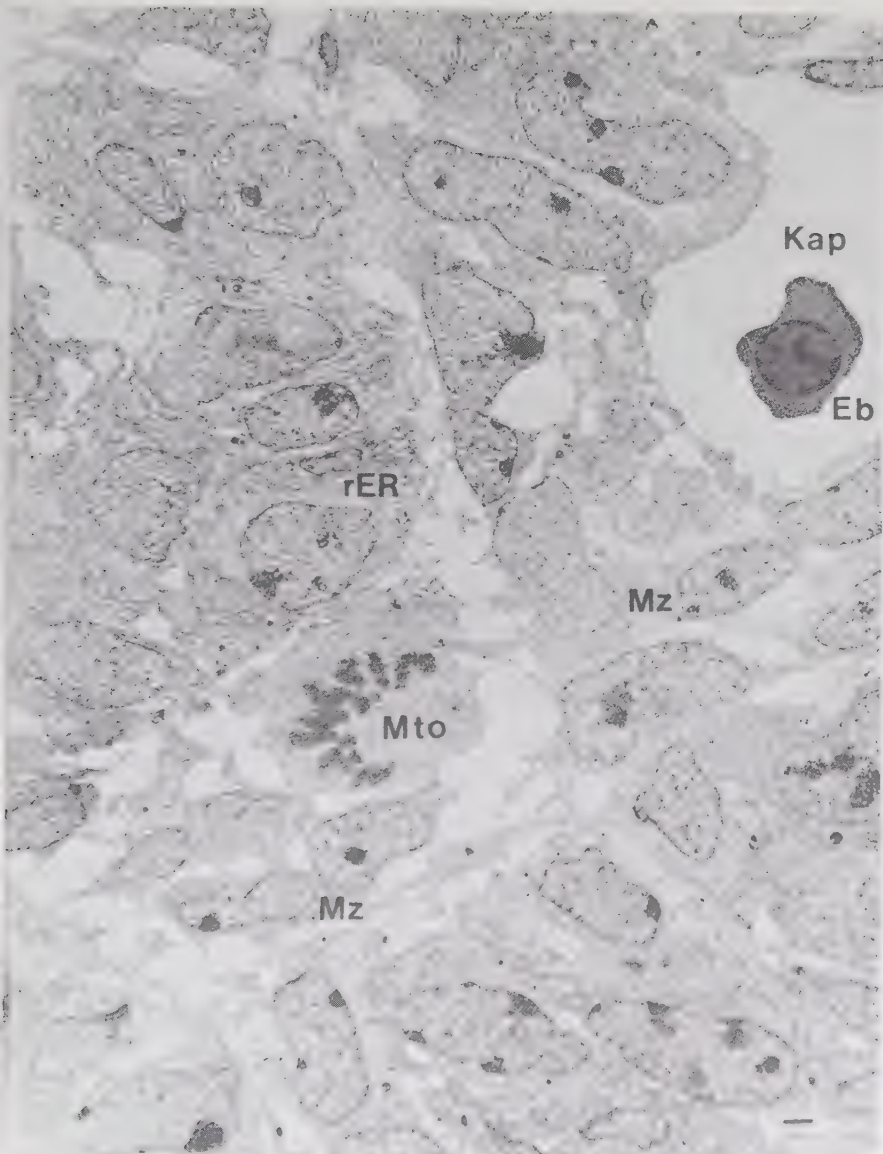
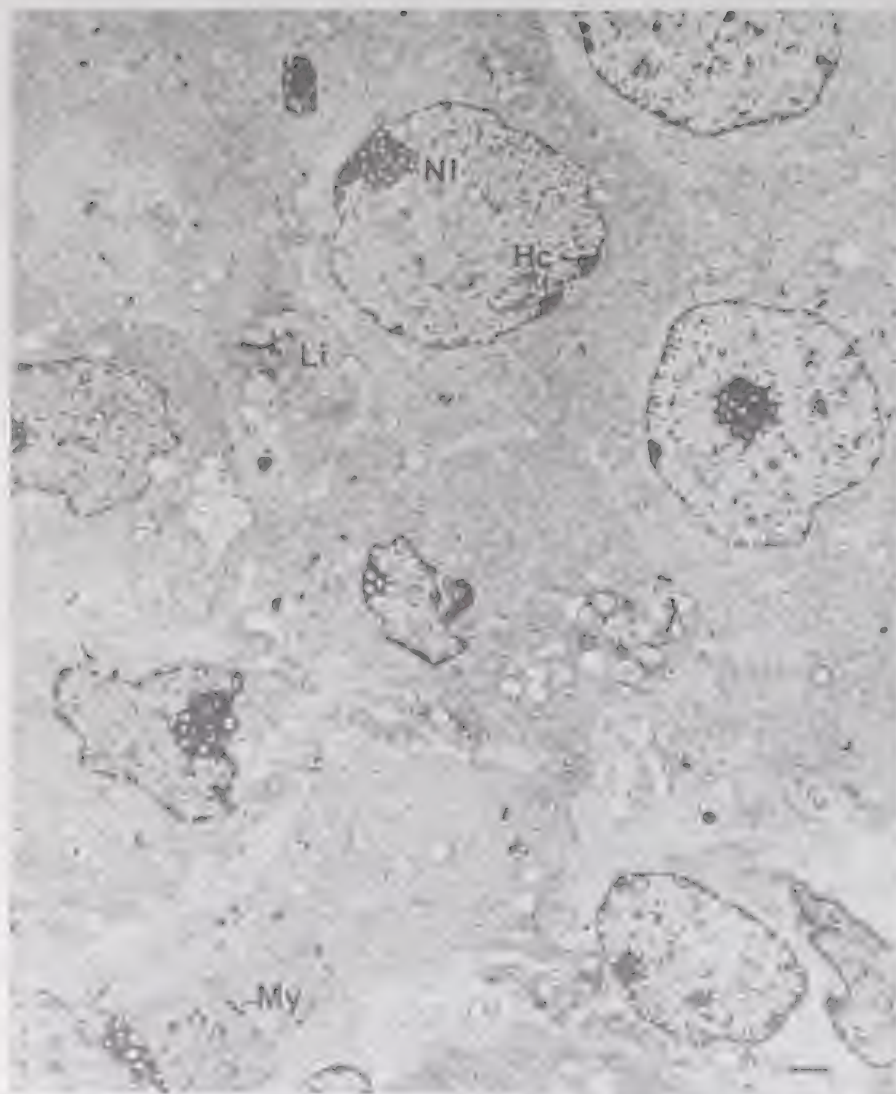


Abb.8: Sertolivorläuferzellen ("Präsertolizellen") in Zellaggregation zu primitiven Keimsträngen (SSL 2,4 cm, ca.42.Tag p.c.)



ME.3: Differenzierte Leydigzellen im Interstitium OSBL 3,2 cm, ca. 46. Tag p.p. (1)

4.2. Entwicklungsabschnitt II:

Embryonen mit SSL von 5,6 - 9,5 cm
(ca. 59. - 70. Tag p.c.)

4.2.1. Lichtmikroskopische Befunde

Das Organ hat stark an Größe zugenommen.

Das Oberflächenepithel besteht zunächst aus einem isoprismatischen Zellverband, dessen einzelne Zellen sich während der Entwicklung mehr und mehr abflachen. Ihre großen, runden Kerne mit prominenten Nukleolen füllen einen großen Teil des Zytoplasmas aus, teilweise wölben sie sich in die Coelomhöhle vor (Abb.10 Ke).

Die Tunica albuginea erfährt in diesem Entwicklungsstadium eine starke Differenzierung. Ihre Schichtdicke hat zugenommen und besteht nun aus unterschiedlichen Zonen. Die apikal gelegene bildet ein lockeres dreidimensionales Netz aus sternförmigen Mesenchymzellen mit unregelmäßig ausgezogenen Kernen. Ihr schließt sich eine Schicht aus dichtgelagerten, flachen, längs orientierten Fibroblasten und vielen faserigen Elementen an. Darunter befindet sich eine Zone mit zahlreichen Blutgefäßen und lockeren, polygonalen Mesenchymzellen. Von dieser tiefsten Schicht der Tunica albuginea ziehen deutliche Septen aus abgeflachten Bindegewebszellen ins Hodeninnere (Abb.10 Ta, Sep).

Die Tubuli seminiferi stellen sich als kompakte Zellstränge dar, die sich zunehmend deutlicher von den dazwischen liegenden, dunkler gefärbten interstitiellen Zellen abheben. Sie laufen radiär vom Hilus auf die Oberfläche des Organes zu,

wo sie sich in leichtem Bogen der Verlaufsrichtung der Hodenoberfläche anpassen. Dabei sind die Tubuli stark gewunden und anastomosieren miteinander (Abb.14a und b,T). Infolge der relativ stärkeren Ausdehnung des Interstitiums werden sie zunehmend auseinander gedrängt, so daß die Flächenverteilung Tubuli / Interstitium zugunsten des Interstitiums verschoben wird. Bis auf die zentral gelegene Retezone treten sie in der oben geschilderten Form im gesamten Hodeninneren auf. Über weite Strecken ist die sie umgebende Basalmembran deutlich zu erkennen (Abb.10a, Bm).

Zunächst unterscheiden sich die Tubuluszellen innerhalb dieses Stadiums farblich weder von den interstitiellen Zellen noch untereinander. Bald erscheinen die Tubuli jedoch insgesamt heller als die Leydigzellen im Interstitium (Abb.10a,T,Lz). Außerdem findet gegen Ende dieses Entwicklungsabschnittes auch innerhalb des Tubulus eine Abstufung in dunkle und helle Zellen statt, so daß die Tubuli nun eine "bunte" Zellpopulation enthalten. Auffällig sind vor allem die hellen, einzeln liegenden, großen runden Keimzellen mit ebenfalls großen runden Kernen, deren Chromatindichte sehr unterschiedlich ist. Mitosen sind in dieser Phase häufig. Außer diesen zahlreichen hellen Keimzellen treten auch vereinzelt kleine dunkle Keimzellen auf. Die Gesamtzahl der Keimzellen ist im Vergleich zum vorigen Stadium gestiegen. Unter den Sertolizellen lassen sich eine ganze Reihe von Helligkeitsgraden differenzieren; immer erscheinen sie jedoch dunkler als die Keimzellen. Insgesamt sind sie unregelmäßig geformt, sehr zahlreich und wesentlich kleiner als die Keimzellen (Abb.10a,Sz).

Das Interstitium dehnt sich in dieser Phase stark aus, so daß, wie oben erwähnt, die Tubuli weiter auseinander gedrängt werden. Dies ist auf eine Ausdehnung der Mesenchymzellen, vor allem aber auf eine Zunahme der Leydigzellen zurückzuführen. Im wesentlichen besteht das Interstitium aus vier Komponenten:

1. den inselartig auftretenden, mit Methylenblau sich kräftig homogen anfärbenden, sehr großen polygonalen Leydigzellen mit großen, dichten Kernen mit Vakuolen bzw. dunklen Granula im Zytoplasma (Abb. 10a, Lz);
2. den abgeflachten, zirkulär in ein bis zwei Lagen die Tubuli umgebenden Fibroblasten (Abb. 10a, Fb);
3. dem lockeren Netz aus undifferenzierten Mesenchymzellen und
4. den zahlreichen Blutgefäßen (Abb. 10a Kap).

Die Leydigzellinseln besitzen im Schnittbild häufig tubulusähnliche Form. Sie nehmen ca. zwei Drittel des gesamten interstitiellen Raumes ein.

Das Rete testis ist nun voll ausgebildet. Es besteht aus einem Netz schmaler Zellstränge, die mit dicht liegenden zytoplasmaarmen Zellen und nur vereinzelt Keimzellen gefüllt sind. Die sie umgebende Basalmembran ist teilweise sehr deutlich zu sehen. In den Zwischenräumen der Tubuli seminiferi befinden sich viele locker gelagerte, z.T. abgeflachte Fibroblasten und zahlreiche Blutgefäße; Leydigzellen dagegen fehlen.

4.2.2. Die Ultrastruktur der Keimzellen

In diesem Entwicklungsabschnitt treten die Keimzellen nur noch innerhalb der Tubuli auf. In diesen liegen sie sowohl zentral als auch in der Peripherie, teilweise breitflächig auf der Basalmembran fußend, teilweise durch Sertolizellausläufer von ihr getrennt (Abb.12 Kz).

Die Anzahl der Keimzellen ist deutlich vermehrt. Mitosen können häufig beobachtet werden. Benachbart liegende Keimzellen kommen daher relativ oft vor. Einige dieser sind durch verschmolzene Plasmalemmbezirke verbunden, deren Länge sehr differiert. Da jeweils nur die beiden äußeren Blätter der Plasmalemata verschmolzen sind, kann man sie als Nexūs bezeichnen (Abb.11a,Nu). Keimzellen, die auf diese Weise in direktem Kontakt stehen, finden sich nur in zentralen Tubulusabschnitten. Gelegentlich konnten Interzellulärbrücken zwischen zwei benachbart liegenden Keimzellen beobachtet werden.

Neben den Verknüpfungen zwischen Keimzellen findet man auch Zellverbindungen zu angrenzenden Sertolizellen, die sich als desmosomenähnliche Verbindungen mit deutlichen Fibrillen bzw. als Maculae adherentes darstellen (Abb.11b,D).

Die Keimzellen sind leicht oval mit einer durchschnittlichen Größe von 10,5 x 7,5 µm. Sie werden an ihrer Oberfläche durch ein stark gefaltetes Plasmalemm begrenzt, das einen unregelmäßigen Interzellularraum freigibt (Abb.12 Iz).

Die Keimzellen sind nicht einheitlich in der optischen Dichte: es kommen etwas hellere, größere und etwas kleinere, dunklere Keimzellen, diese jedoch in geringerer Zahl, vor.

Der Zellkern ist rundlich und weist einen Durchmesser von 6,8 µm auf.

Der perinukleäre Raum wird von deutlich konturierten Membranen begrenzt und ist von Poren unterbrochen, deren Größe und Abstand sehr unterschiedlich ausgebildet sind (Abb.11a und c, pZ). Vereinzelt findet sich eine Pore, deren Größe bereits die Bezeichnung "Kernöffnung" rechtfertigen würde. Auffällig sind ferner membranbegrenzte Kernausbuchtungen, die mit Chromatinverdichtungen gefüllt sind. Häufig sind Übergangsstellen der äußeren Kernmembran in rER-Zisternen anzutreffen (Abb.11a, rER).

Die Struktur des Chromatins entspricht weitgehend dem im vorigen Entwicklungsabschnitt beschriebenen Bild.

Die Nukleolen (zwei bis drei pro Schnittbild) erscheinen in diesem Entwicklungsabschnitt häufig vergrößert, eine deutliche Pars filamentosa und Pars amorpha sind ausgebildet.

Das Zytoplasma erscheint bei den meisten Keimzellen fein granuliert, elektronenoptisch hell. Daneben treten elektronenoptisch "dunkle" Keimzellen auf (s.oben), deren Grund- und Kernplasma elektronenoptisch dicht und granuliert sind (Abb.12 Kz). Die Zellen sind mit relativ wenigen Organellen ausgestattet.

Die Mitochondrien sind unregelmäßig im Zytoplasma verstreut. Auffallend ist die Größe einzelner Mitochondrien (Abb.12, tM). Ihre Form ist meist rundlich. Sie weisen unterschiedliche Innenstrukturen auf, das vorherrschende Bild sind jedoch Tubuli. Diese sind häufig in eine elektronenoptisch dichte Matrix eingelagert. Seltener stellt sich diese jedoch auch hell dar. Neben den Tubuli können auch Membraneinstülpungen als Innenstruktur auftreten, die als Zwischenstadium zwischen Tubuli und Cristae

imponieren (Abb.11b,M). Seltener finden sich gut entwickelte Cristae in Mitochondrien (Abb.11c cM). Der Golgi-Apparat besteht aus mehreren Gruppen zahlreicher, dicht gestapelter Membransäckchen und Vesikeln, die optisch leer erscheinen. Häufig ist das Zentriol inmitten des Golgi-Feldes anzutreffen. Zwischen den Membransäckchen treten wiederum hantelförmige, osmiophile membranbegrenzte Einschlüsse auf.

Das endoplasmatische Reticulum ist nur in geringer Anzahl - meist als kurze rER-Tubuli - ausgebildet. Zuweilen treten diese Organellen in Form langer, dünner rER-Schläuche auf, die mit Mitochondrien in Verbindung stehen können oder mit der äußeren Kernmembran konfluieren.

Ribosomen treten hauptsächlich als Polyribosomen frei im Zytoplasma auf.

Die Mehrzahl der Keimzellen schließt vakuolär geformte Lipideinschlüsse ein, nur selten kann Glykogen nachgewiesen werden.

Gelegentlich wurden degenerierende Keimzellen beobachtet, die durch ihre pyknotisch veränderten Kerne und ihre gequollenen Mitochondrien auffallen. Innerhalb von Sertolizellen wurden degenerierte Keimzellen als Phagolysosomen beobachtet (Abb.13, Kz-N). (s.Kap. Sertolizellen)

4.2.3. Die Ultrastruktur der Sertolizellen

In dieser Phase findet eine weitere rapide Differenzierung der fetalen Sertolizellen statt, wobei sich zahlreiche unterschiedlich helle bzw. dunkle Sertolizellvarianten entwickeln. Die Form der Sertolizellen ist in den meisten Fällen gedrunken. Seltener findet man aber auch Zellen, die lange Zytoplasmaausläufer ins Tubulusinnere aussenden, so daß sie eher hochprismatisch erscheinen. Nicht alle Zellen fußen auf der Basalmembran. Ihre Zellachsen bezüglich des Tubulusquerschnittes sind unterschiedlich (Abb. 12). Im allgemeinen sind die Sertolizellen etwas kleiner als die Keimzellen.

Zellverbindungen zwischen Sertolizellen konnten nicht beobachtet werden, während zu den Keimzellen, wie oben beschrieben, deutliche desmosomenähnliche Verbindungen bestehen (Abb. 11b,D).

Die Kerne der Sertolizellen sind deutlich kleiner als die der Keimzellen. Sie sind unregelmäßig geformt: von rundlich-oval bis tief eingekerbt. Ihre Lage im Zytoplasma ist meist zentral, bei den hochprismatischen Sertolizellen - die der Basalmembran anliegen - jedoch auch exzentrisch, basalständig. Die Kernmembran trägt wiederum einen Streifen marginal kondensierten Chromatins, der vor allem bei den dunkleren Sertolizellvarianten deutlich ausgebildet ist (Abb. 12a, N).

Das Karyoplasma ist entweder locker granuliert und enthält wenig Heterochromatinaggregate (helle Varianten) oder sehr dicht granuliert mit wesentlich mehr Heterochromatin, das in beiden Fällen häufig an die Kernmembran angelagert ist. Gelegentlich tritt ein stark eingefalteter Kern mit sehr viel

Heterochromatin auf (Abb.12a,N,Hc).

Die Ausbildung der Nukleolen entspricht früheren Entwicklungsstadien.

Das Zytoplasma ist unterschiedlich dicht: Während die hellen Sertolizellen ein sehr locker und fein granuliertes Grundplasma besitzen, liegen einige dunkle Sertolizellen mit stark elektronendichtem Zytoplasma (Abb.12a,d-Sz 1), andere dunkle Sertolizellen dagegen mit locker granuliertem Zytoplasma vor. Diese erscheinen durch ihr dichtgepacktes, mit elektronendichtem Inhalt gefülltes ER dunkel (Abb.12, d-Sz 2).

Die Mitochondrien sind rund oder zigarrenförmig. Sie sind gleichmäßig zwischen den erweiterten ER-Zisternen verteilt. In vielen Fällen entspricht die Dichte ihrer Matrix dem Inhalt der erweiterten ER-Zisternen, so daß sie sich nur undeutlich von diesen abheben. Ihre Innenstruktur ist vom Crista-Typ.

Der Golgi-Komplex hat etwas an Größe zugenommen, häufiger treten nun auch mehrere kleine Golgi-Apparate nebeneinander auf.

Das endoplasmatische Reticulum ist noch stärker entwickelt als in der vorigen Phase und besitzt sehr unterschiedliche Ausprägungen. Im wesentlichen lassen sich vier Varianten unterscheiden, wobei die Übergänge zwischen ihnen fließend erscheinen. Eine klare Einordnung ist daher von vornherein nicht zu erwarten.

Bei den helleren Sertolizellen (Kerne und Zytoplasma locker) finden sich erstens Zellen mit kurzen bis mittleren, im Schnittbild tubulusähnlichen rER-Zisternen in - im Vergleich zu allen anderen Sertolizellvarianten - geringer Menge. Ihr Inhalt ist elektronendicht (Abb.12 h-Sz 1). Zweitens tritt

in hellen Sertolizellen das ER in Form von sehr langen schmalen, entweder spiralig aufgerollten oder konzentrisch bzw. parallel geschichteten rER-Zisternen auf. Ihre Matrix ist mäßig elektronendicht. Meist ist fast das gesamte Zytoplasma vom ER ausgefüllt (Abb.12 h-Sz 2).

Bei den dunkleren Sertolizellen (Kerne dicht, Zytoplasma dicht oder locker) lassen sich wiederum zwei ER-Formen unterscheiden: erstens die oben beschriebenen konzentrisch oder parallel geordneten rER-Zisternen, jedoch mit stark elektronendichtem Inhalt und noch dichter gepackt (Abb.12 d-Sz 2); zweitens unregelmäßig erweiterte ER-Zisternen, die nur oligogranulär sind. Sie können ebenfalls konzentrisch geschichtet, in Wirbelform oder verzweigt auftreten. Teilweise ist ihr Lumen derart erweitert, daß sie vesikulär erscheinen. Ihre Matrix variiert von elektronendicht über locker bis weitgehend optisch leer (Abb.12 d-Sz 1, Abb.12a).

Auch die Ribosomenverteilung ist bei hellen und dunklen Sertolizellen unterschiedlich. Während bei den hellen Sertolizellen das ER immer dicht mit Ribosomen besetzt ist, ist die Menge der Ribosomen im Zytoplasma nur mäßig. Die dunklen Sertolizellen besitzen mehr Ribosomen im Zytoplasma, jedoch variiert der Anteil der an das ER gebundenen stark (s.o.).

Glykogen und Lipide treten nur in einigen Sertolizellen und nur in geringer Menge auf.

Häufig sind jedoch stark osmiophile Lysosomen, die z.T. Vakuolen enthalten (s.o. "siegelring-ähnlich").

Ferner treten in dunklen Sertolizellen gelegentlich größere lamellenartig geschichtete Myelinkörper auf.

Wie bereits im Kapitel "Ultrastruktur der Keimzellen" erwähnt, treten in einigen Sertolizellen große Phagolysosomen auf. Bei dem phagozytierten Material handelt es sich um degenerierte Keimzellen. Dies ist an den pyknotischen Kernen und einigen Mitochondrien mit erhaltener Tubulusinnenstruktur erkenntlich (Abb.13 Kz-N, tM, Sz-N, cM). Andere Mitochondrien weisen eine bereits lysierte Innenstruktur auf, so daß sie als Vakuolen imponieren (Abb.13 V). Auffallend sind ferner die zahlreichen dem Phagolysosom zugewandten Golgi-Komplexe der Sertolizelle (Abb.13 G).

4.2.4. Die Ultrastruktur der Basalmembran des Tubulus seminiferus

Die Schichtdicke der Basalmembran hat so weit zugenommen, daß diese bereits mit lichthistologischen Darstellungstechniken nachweisbar ist (Abb.14a und b Bm).

Ihre durchschnittliche Dicke beträgt 0,1 bis 0,2 μm . Fast immer ist ihre Struktur homogen, nur bei den größeren der in diesem Stadium untersuchten Feten sind gelegentlich zwei Lamina densa - Schichten zu unterscheiden (Abb.12a Bm).

Einzelne, meist quer getroffene Kollagenfibrillen schließen sich ihr außen an (Abb.12a Kf).

4.2.5. Die Ultrastruktur der Leydigzellen

Die Ausdehnung der Leydigzellen und ihre Differenzierung nimmt während dieser Phase weiter zu (s.Kapitel "Lichtmikroskopische Befunde").

In einigen Bereichen sind jedoch anstelle der Leydigzellen noch undifferenzierte Mesenchymzellen vorhanden, die durch weite Interzellularräume voneinander getrennt liegen.

Die Form der Leydigzellen ist polygonal. Sie besitzen einen großen Zelleib, einige sind größer als in den Tubuli benachbart liegende Keimzellen. Sie sind teilweise über weite Strecken durch gap junctions miteinander verbunden. Auch desmosomenähnliche Zellverbindungen sind vorhanden.

Die großen Kerne liegen exzentrisch und sind unregelmäßig geformt. Je stärker die Gesamtzelle differenziert ist, desto häufiger sind eingekerbte oder eckige Kernformen (Abb.15). An der Kernstruktur hat sich nichts geändert.

In dieser Phase treten deutliche Unterschiede in der Helligkeit der Gesamtzelle oder aber innerhalb des Zytoplasmas einer einzelnen Leydigzelle auf.

Die helleren Leydigzellen besitzen ein locker granuliertes Zytoplasma, wenige freie Ribosomen und größere, zisternenartig erweiterte ER-Tubuli, die teilweise oligogranulär, teilweise agranulär sind. Das Lumen der Tubuli ist entweder optisch leer oder mit wenig lockerem Inhalt gefüllt (Abb.15, 16 h-Lz).

Die dunkleren Leydigzellen weisen ein dichtes Zytoplasma mit zahlreichen Ribosomen und sehr vielen Glykogengranula auf (Abb.16 d-Lz). Das ER ist jedoch unterschiedlich ausgebildet: entweder liegt es als schmale, lange, oligogranuläre ER-Zisternen

vor, die mit mäßig elektronendichtem Inhalt gefüllt sind (Abb.16 rER), oder es handelt sich um sehr kleine undeutliche ER-Tubuli und Vesikel, die ebenfalls oligogranulär sind (Abb.15 d-Lz, ER).

Zwischen diesen beiden Zelltypen bestehen fließende Übergänge oder es befindet sich in einer Zelle ein helles und ein dunkles Zytoplasma-Kompartiment.

Die Mitochondrien treten häufig in einem Zytoplasmabezirk massiert auf. Ihre Innenstruktur beinhaltet deutliche Cristae (Abb.16 cM). Bezüglich der Mitochondrien bestehen zwischen den hellen und dunklen Leydigzellen keine Unterschiede.

Der Golgi-Apparat hat sich mittlerweile sehr stark ausdifferenziert. Meist handelt es sich um einen zirkulär angeordneten Komplex aus mehreren Golgi-Feldern, die in Kernnähe liegen (Abb.15 G). Zentral befindet sich häufig das Zentriol. Die Stapel aus Membransäckchen schnüren sich zu sehr vielen kleinen Vesikeln ab (Abb.15 Gv).

Lipoideinschlüsse treten vermehrt in den dunklen Leydigzellen auf. Sie sind zwischen das ER eingelagert und z.T. zu mehreren angeordnet. Ihre Größe ist variabel (Abb.15, 16 Li).

Glykogen tritt, außer in wenigen dunklen Leydigzellen, nur in sehr geringer Menge auf (Abb.16 Gl).

Die lamellenartig geschichteten Myelinkörper sind relativ häufig. Ein vermehrtes Auftreten in dunklen Leydigzellen, wie im vorigen Abschnitt, ist nicht zu beobachten. Ihre Größe und Form variiert erheblich (Abb.15 My).

Die Anzahl der Lysosomen hat im Vergleich zum vorigen Stadium zugenommen. Sie sind sehr unterschiedlich groß. Sowohl runde als auch längliche oder kommaförmige Gebilde kommen vor (Abb.15, 16 Ly). Vereinzelt finden sich multivesikuläre Körper im Zytoplasma.

In diesem Stadium treten einzelne degenerierende Leydigzellen auf. Ihre Kerne sind rhektisch zerfallen, das Chromatin ist stark kondensiert und im Zytoplasma befinden sich vakuolär erweiterte ER-Tubuli.

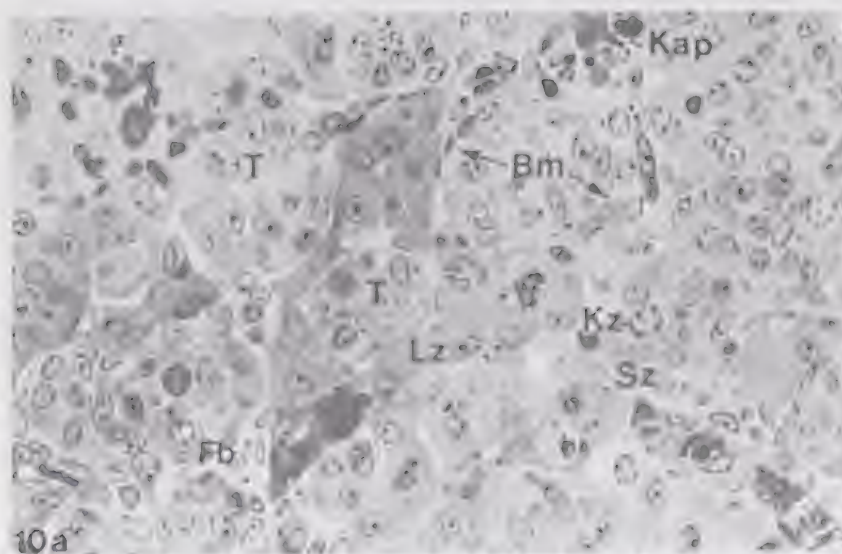


Abb. 10) Conadenausschnitt (222/6,5 cm, ca. 60. Tag p.c.)

× 220

Abb. 10a) Ausschnittsvergrößerung aus Abb. 10

× 725

Abb.11a:

Durch Nexus verbundene Keimzellen (SSL 9,5 cm, ca.70.Tag p.c.)

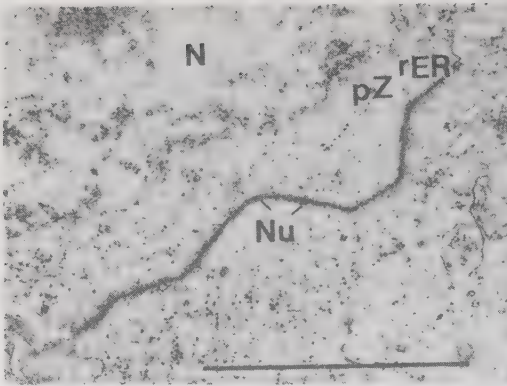


Abb.11b:

Desmosomenähnliche Verbindung zwischen einer Keimzelle und einer Sertolizelle (SSL 7,0 cm, ca.61.Tag p.c.)

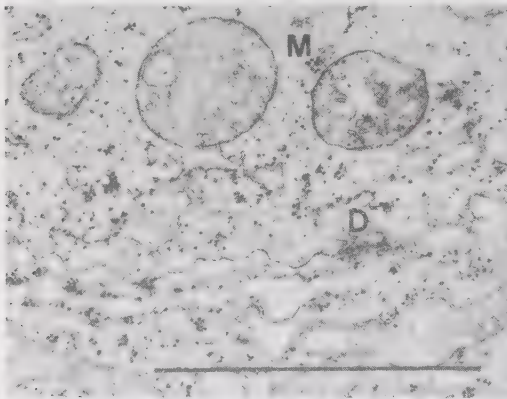
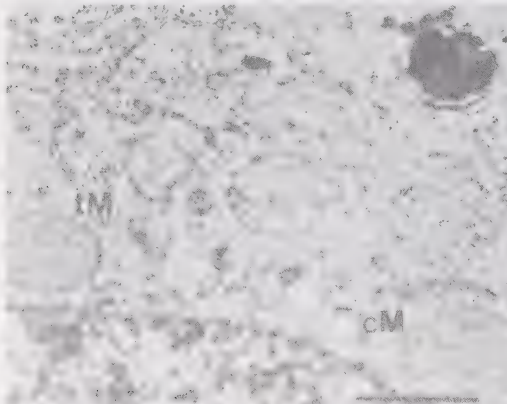


Abb.11c:

Crista-, Tubulusinnenstrukturen und Zwischenformen in Mitochondrien einer Keimzelle (SSL 7,0 cm, ca.61.Tag p.c.)



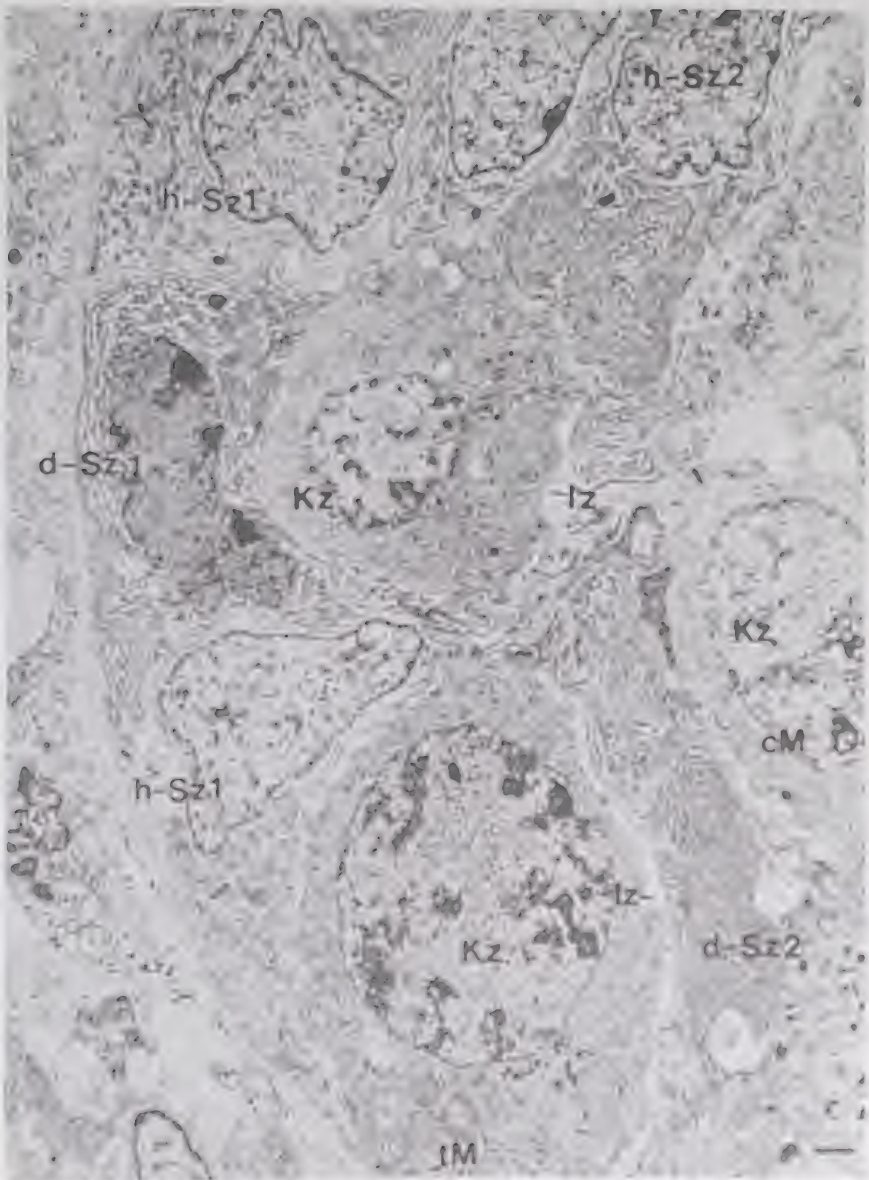


Abb. 12) Anschnittvergrößerung aus der Wand eines Tubulus seminiferus mit unterschiedlichen Sertolizellen, sowie hellen und dunklen Keimzellen; h-Sz 1 u. 2: helle Sertolizellen, d-Sz 1 u. 2: dunkle Sertolizellen (SSL 8,5 cm, ca. 64.Tag p.c.)

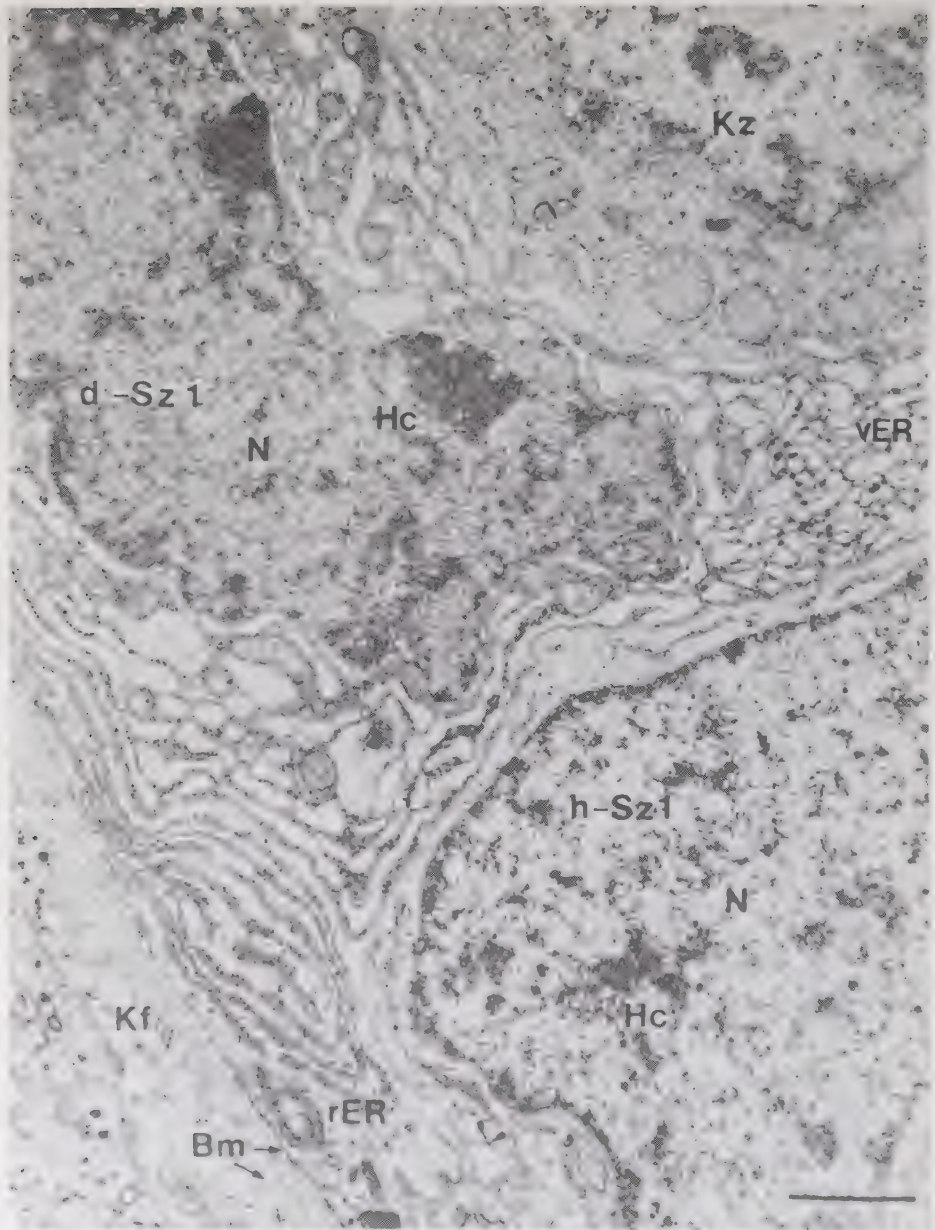


Abb. 12a: Ausschnittsvergrößerung aus Abb. 12. Dunkle Sertolizellvariante (d-Sz 1) mit dichtem Zytoplasma und vakuolär erweitertem ER (SSL 8,5 cm, ca. 64. Tag p.c.)

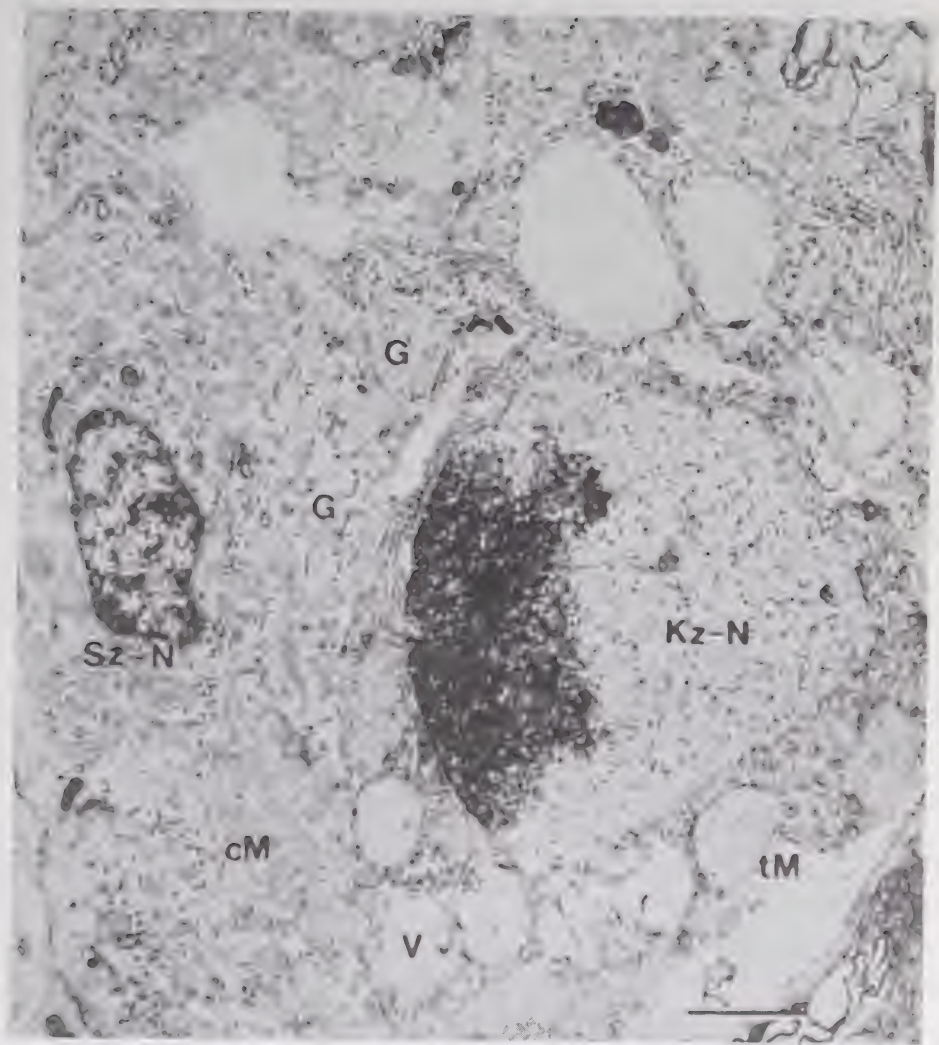


Abb. 13: Kortikaliselle mit phagozytierter Keimzelle (SSC 8,0 cm, ca. 61. Tag p.c.)

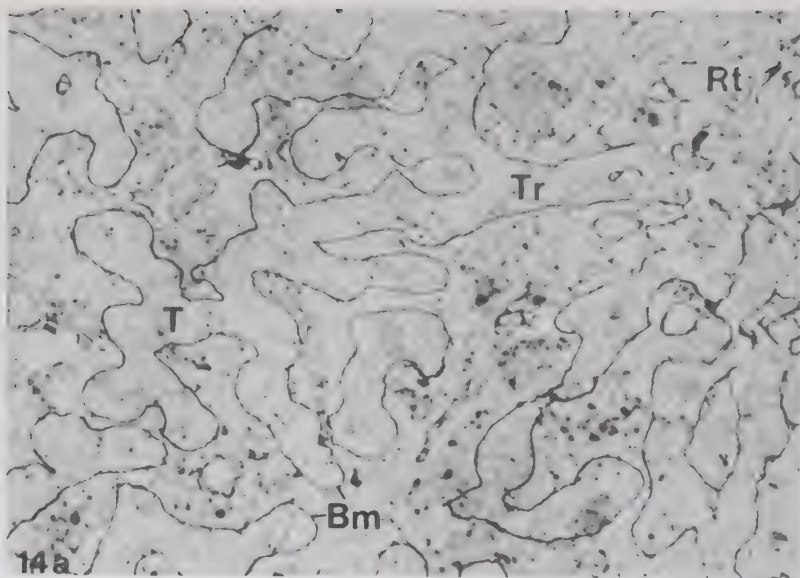


Abb.14a: Selektive Anfärbung der Basalmembran der Tubuli seminiferi und Tubuli recti (SSL 6,0 cm, ca.57.Tag p.c.) x 220

Abb.14b: Anastomosierender Verlauf der Tubuli seminiferi (SSL 6,0 cm, ca.57.Tag p.c.)

x 640

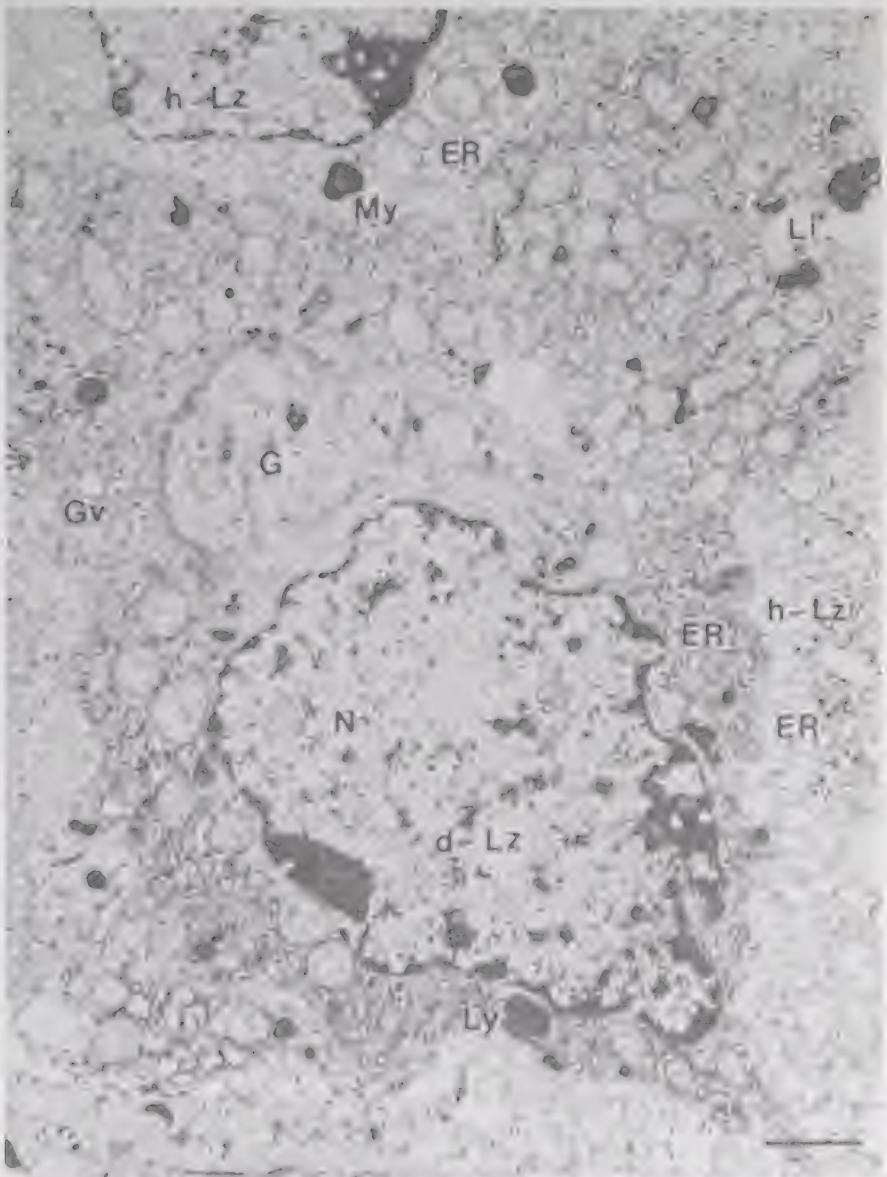


Abb. 15: Ausschnittsvergrößerung aus dem interstitiellen Bindegewebe mit hellen und dunklen Leydigzellen (h-Lz, d-Lz) (SSL 8,5 cm, ca. 64. Tag p.c.)

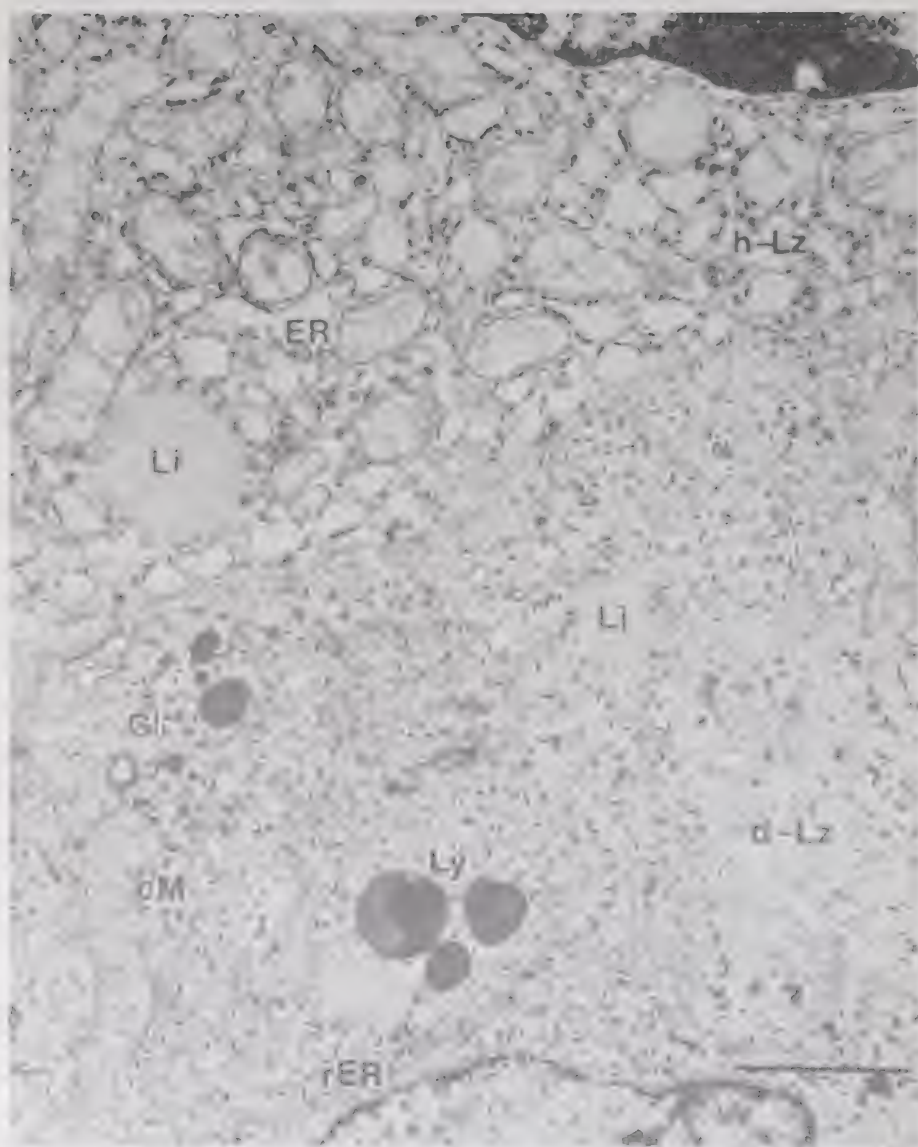


Abb.16: ER-Formen in Leydigzellen (SSL 7,0 cm, ca.61.Tag p.c.)

4.3. Entwicklungsabschnitt III:

Embryonen mit SSL von 10,5 - 21,0 cm
(ca. 76. - 109. Tag p.c.)

4.3.1. Lichtmikroskopische Befunde

Der Hoden hat beträchtlich an Größe zugenommen, seine Form bleibt gegenüber früheren Entwicklungsstadien jedoch unverändert.

Das Oberflächenepithel stellt sich mittlerweile als eine Schicht kleiner, sehr flacher Epithelzellen dar.

Die Tunica albuginea ist noch breiter geworden als in allen bisherigen Embryonen. Man erkennt in ihr eine Aufgliederung in eine zellarme, faserreiche und dadurch dichte, äußere Schicht, die Tunica fibrosa, und eine innere, zellreiche Schicht mit Gefäßen von größeren Durchmessern, die Tunica vasculosa. Von ihr ausgehend ziehen Bindegewebszüge von unterschiedlicher Breite und Dichte radiär mit geradem Verlauf in Richtung Rete testis und teilen das Hodeninnere in pyramidenähnliche Kompartimente.

Die Tubuli seminiferi sind von einer meist deutlich sichtbaren Basalmembran umgeben (Abb.17 Bm). Ihre Zahl hat sich vermehrt, sie sind länger geworden. Im zentralen Bereich des Hodens verlaufen diese Schläuche bevorzugt gerade, während sie in peripheren Abschnitten stärker gewunden erscheinen, so daß hier häufiger Tubulusquerschnitte angetroffen werden. Die Stränge sind insgesamt heller geworden und heben sich gut vom umgebenden Gewebe ab.

Die Tubuluszellen sind noch immer "bunt", d.h. sich hell und dunkel anfärbend (Abb.17 T), wie bereits beschrieben. Auffällig ist jedoch

die stark gestiegene Zahl der großen runden, hellen Keimzellen (Abb.17 hKz). Sie liegen entweder einzeln und von Sertolizellen umgeben oder in Paaren benachbart. Ihre Lage bezüglich der Basalmembran ist unterschiedlich: die meisten Keimzellen liegen in der Tubulusperipherie, einige jedoch auch zentral im Tubulus. Die breitflächig der Basalmembran anliegenden Keimzellen sind relativ selten, da fast immer ein Zytoplasmaausläufer einer Sertolizelle dazwischen liegt. Neben den großen, hellen Keimzellen kommen in geringerer Zahl etwas kleinere, dunkle Keimzellen vor (Abb.17 dKz).

Die Sertolizellen kommen in verschiedenen Heligkeitsabstufungen vor. Je älter die Embryonen werden, desto häufiger treten senkrecht an der Basalmembran aufgereichte Sertolizellen auf, die basalständige Kerne und weit in das Tubuluszentrum reichende dunkle Zytoplasmaausläufer besitzen (Abb.17 Sz).

Obwohl die Anzahl der Keimzellen inzwischen zugenommen hat, sind die Sertolizellen noch immer sehr viel zahlreicher.

Das Interstitium verändert sich in diesem Stadium wiederum stark, wobei die Veränderung vor allem die Ausdehnung der Leydigzellen betrifft. Bei den jüngeren Embryonen dieser Phase liegen Leydigzellinseln vor, die teilweise breiter als die benachbarten Tubuli sind. Insgesamt ist die Fläche des Interstitiums größer als die Fläche der Tubuli. Bei Embryonen von 11 - 12 cm SSL besitzen die Leydigzellen ihr Maximum an Ausdehnung. Es handelt sich um die oben erwähnten (mit Methylenblau) dunkelblau gefärbten Zellen, deren auffälligste Merkmale ihre enorme Größe und die zahlreichen dunkelbraunen Granula bzw. die hell leuchten-

den Vakuolen sind (Abb.17 Lz,Gr). Die Anordnung der Leydigzellinseln läßt keine bevorzugte Anlagerung in der Nähe von Kapillaren erkennen. Die Blutgefäße sind meist von locker gelagerten Mesenchymzellen umgeben (Abb.17 Kap). Bei Embryonen von einer SSL ab 12,5 cm nimmt die Häufigkeit der Leydigzellen langsam wieder ab. Die Leydigzellinseln werden seltener, es treten häufiger einzelne Leydigzellen auf. Anstelle der großen Leydigzellaggregationen sind locker gefügte, undifferenzierte Mesenchymzellen getreten (Abb.17 Mz).

Degenerierende Leydigzellen (mit pyknotischen Kernen oder großen Vakuolen im Zytoplasma) wurden nur sehr selten beobachtet. Bis zum Ende dieser Phase nimmt die Leydigzellanzahl weiter ab, so daß das Interstitium letztlich aus sehr viel mehr Bindegewebe als Leydigzellen besteht. Während die Leydigzellen abnehmen, steigt die Anzahl der die Tubuli zirkulär umgebenden Fibroblasten auf ein bis zwei Schichten abgeflachter Zellen an (Abb.17 Fb).

Das Rete testis hat sich zu einem verzweigten System aus schmalen Zellzügen entwickelt. Die Keimstränge stehen über verjüngte, gerade verlaufende Anschlußstücke mit dem Rete testis in Verbindung. Die Stränge des Rete bestehen aus zwei bis drei Reihen nebeneinander liegender und mit Kernen überwiegend quer zur Längsrichtung des Stranges ausgerichteten, schlanken Zellen. Keimzellen kommen nur noch im Übergangsbereich zwischen Tubuli seminiferi und Retesträngen vor, in den Retesträngen jedoch nicht mehr. Der Raum zwischen dem Netzwerk aus Strängen wird durch lockeres, faseriges Bindegewebe mit zahlreichen Gefäßen ausgefüllt, Leydigzellen fehlen.

4.3.2. Die Ultrastruktur der Keimzellen

Die Keimzellen sind hauptsächlich in der Tubulus-peripherie lokalisiert. Hier liegen sie der Basalmembran jedoch nur selten breitflächig an, meist sind sie durch Sertolizellausläufer von ihr getrennt. Auch im Tubuluszentrum finden sich immer wieder Keimzellen (Abb.18).

Die Zahl der Keimzellen pro Schnittfläche ist weiter gestiegen, es konnten keine fusionierten Plasmalembezirke zwischen den Keimzellen mehr beobachtet werden. Dafür sind häufig desmosomenähnliche Verbindungen zwischen Keimzellen vorhanden (Abb.18a D).

Zu den umliegenden Sertolizellen sind ebenfalls desmosomenähnliche Verbindungen ausgebildet.

Gelegentlich sind pinozytotische Vesikel an der Plasmamembran vorhanden.

Es treten relativ viele große, helle, oval geformte Keimzellen (ca.11,7 x 7,1 μm) und kleinere, dunklere, ebenfalls ovale Keimzellen (ca.8,4 x 6,8 μm) auf, die sich außer in der Größe nur in der Dichte ihres Zytoplasmas unterscheiden (Abb.18 hKz, dKz).

Interzellulärbrücken treten in diesem Stadium im Vergleich zur vorigen Phase häufiger auf. Sie sind sowohl zwischen dunklen Keimzellen als auch zwischen hellen und dunklen Keimzellen vorhanden (Abb.19, IzB). Im Bereich der Brücke ist die Plasmamembran auffällig verdickt.

Der rundliche Zellkern ist zentral gelegen und besitzt einen Durchmesser von ca. 6,9 μm .

Die perinukleäre Zisterne ist von Poren durchsetzt und bildet gelegentlich erweiterte membranbegrenzte Zisternen. Auch vorgewölbte Kernabschnitte sind wieder zu beobachten.

Die Struktur des Chromatins ist feinflockig, locker und relativ gleichmäßig, der Heterochromatinanteil ist gering (Abb.19,N).

Es treten ein bis drei prominente, exzentrisch gelagerte, teilweise sehr große Nukleolen auf, die eine auffallende Netzstruktur aufweisen (Abb.19 N1). Die kleine Pars amorphia ist in die Maschen des filamentösen Teiles eingelagert.

Das Zytoplasma ist bei den hellen Keimzellen locker, wirkt jedoch aufgrund der großen Menge eingelagerter Glykogengranula dichter (Abb.19 hKz). Bei den dunklen Keimzellen ist es dagegen dicht (Abb.19 dKz).

Die Mitochondrien sind oftmals unregelmäßig im Zytoplasma verstreut, sind meist vom Tubulustyp, teilweise mit einer elektronendichten Matrix, und rundlich. Es treten jedoch vereinzelt auch hantelförmige Mitochondrien auf. Neben den Mitochondrien vom Tubulustyp und vielen Zwischenformen sind auch einige mit Crista-Innenstruktur vorhanden.

Das Golgi-Feld entspricht dem oben beschriebenen, häufig befindet sich in seiner Mitte das Zentriol.

Das endoplasmatische Reticulum dieses Stadiums ist auffällig: Während in der zweiten Phase der Entwicklung wenige kurze rER-Zisternen vorliegen, tritt in dieser Phase vor allem viel aER auf, das in Form von Vesikeln, Schläuchen und erweiterten optisch leeren - vakuolenähnlichen - Zisternen vorliegt (Abb.20 aER). Neben diesem kommt auch in geringer Menge das im zweiten Stadium beschriebene rER vor, das häufig mit Mitochondrien in Kontakt steht (Abb.20 rER).

Die Ribosomen treten einzeln und in Form von Polyribosomen im Zytoplasma auf.

Glykogen liegt in großer Menge, sowohl in einzelnen Granula als auch zu Aggregaten gelagert, vor (Abb. 19 und 20 G1). Letztere treten meist den aER-Zister-

nen angelagert auf. Gegen Ende dieser Entwicklungsphase verlieren die Keimzellen ihre Glykogeneinschlüsse wieder. Lipidvakuolen sind selten. Gelegentlich sind Mikrotubuli in den Keimzellen enthalten.

Chromatoid bodies treten vereinzelt im Zytoplasma und im Kern auf.

Mitosen kommen relativ häufig vor.

In diesem Stadium können auch oftmals degenerativ verändert Keimzellen beobachtet werden.

4.3.3. Die Ultrastruktur der Sertolizellen

Die Form der Sertolizellen variiert von gedrunzen polygonal bis hochprismatisch, wobei letztere Zellform häufiger ist als in der vorigen Phase. Die gedrunzen polygonalen Zellen befinden sich zumeist an der Basalmembran, ihre Zellachse variiert. Die Sertolizellen mit langen Zytoplasmaausläufern ins Tubuluszentrum dagegen fußen ausschließlich senkrecht auf der Basalmembran (Abb.18,20 Sz). In dieser Phase treten Zellverbindungen zwischen den Sertolizellen auf, die in einigen Fällen desmosomenähnlich (Abb.20 D), in anderen dagegen gap junction-ähnlich sind. Die Verbindung zwischen Sertolizellen/Keimzellen entspricht den oben geschilderten.

Die Kerne der Sertolizellen sind in den meisten Fällen oval bis leicht unregelmäßig. Stark eingefaltete Kerne sind seltener als in der vorigen Phase. Ihre Lage ist meist basalständig, an der Kernmembran befindet sich nur sehr wenig marginal kondensiertes Chromatin (Abb.20 N). Das Karyoplasma ist insgesamt locker und unregelmäßig flockig, es treten nur einige wenige Heterochromatinaggregate auf (Abb.20 N,Hc).

Die Nucleoli sind kleiner als die Keimzellnukleolen. Sie bestehen hauptsächlich aus Pars amorpha, seltener auch aus filamentösen Anteilen. Häufig liegen sie der Kernmembran an, immer liegen sie exzentrisch (Abb.20).

Das Zytoplasma ist in allen Sertolizellen dieser Phase locker und fein granuliert (Abb.20 Zp).

Die Mitochondrien entsprechen im wesentlichen den oben beschriebenen, jedoch fallen häufiger sehr lange tubulusähnliche Formen auf (Abb.20 cM).

Der Golgi-Apparat ist relativ klein (Abb.20 G). Das endoplasmatische Reticulum ist etwas weniger dominant als in der vorigen Phase, ist aber noch immer die am besten entwickelte Organelle der Sertolizellen. In einigen Zellen füllt es als spirallige, parallele oder konzentrisch geschichtete rER-Zisternen, die sich z.T. am Ende erweitern, fast das gesamte Zytoplasma aus. Allerdings sind sie lockerer gelagert als im vorigen Stadium. Die Zisternen sind mit mäßig elektronendichter Matrix gefüllt (Abb.20 rER). Häufig liegt das ER auch in Form kurzer, teilweise erweiterter rER-Zisternen vor, die locker und unregelmäßig im Zytoplasma verstreut sind (Abb.20 rER). Schließlich kommen auch Sertolizellen mit Anteilen beider ER-Formen vor.

Im Zytoplasma liegen viele freie Ribosomen, auch als rosettenförmige Polysomen.

In dieser Phase treten in einigen Sertolizellen geringe Mengen Glykogengranula auf, im Vergleich mit den umliegenden Keimzellen jedoch sehr wenig.

Lipidvakuolen sind nicht vorhanden, Lysosomen und Myelinkörper sind spärlich.

Gelegentlich finden sich in den Sertolizellen wiederum phagozytierte Keimzellbestandteile.

Auch in dieser Phase sind deutliche Mikrofilamentbündel an der basalmembranständigen Plasmamembran zu finden (Abb.20a Mf).

Häufig treten in diesem Plasmalembbereich kleine pinozytotische Caveolae und Vesikel auf, die der Basalmembran zugewandt liegen (Abb.20b pV).

In diesem Stadium der Entwicklung wurden häufig Mitosen der Sertolizellen beobachtet.

4.3.4. Die Ultrastruktur der Basalmembran des Tubulus seminiferus

Die Dicke der Basalmembran steigt in dieser Phase von ca. 0,2 μm auf 0,4 μm an. Ihre Struktur erscheint anfangs eher homogen, bei den älteren Feten sind jedoch bis zu vier, teilweise undeutliche, Lamellen zu erkennen (Abb.20 Bm).

Bei Feten von 13,5 - 16,5 cm SSL sind häufig pinozytotische Caveolae und Vesikel zu beobachten, die das Plasmalemm der Sertolizelle einstülpen (Abb.20b pV).

Sog. "knob like formations", also knotenförmig ins Sertolizell-Zytoplasma vorgewölbte Basalmembranabschnitte, konnten nicht beobachtet werden.

Außen sind der Basalmembran einzelne Kollagenfibrillen und nachfolgend zirkulär angeordnete Fibroblasten angelagert (Abb.18 Bm, Fb; Abb.20 Kf, Fb; Abb.20b Kf, Bm).

4.3.5. Die Ultrastruktur der Leydigzellen

Zu Beginn dieser Phase bis zu einer Größe von 12 μ m SSL erreichen die Leydigzellen ihr Maximum an Ausdehnung und Differenzierung.

Danach sind wieder Areale mit locker gelagerten, polygonalen bis abgeflachten Mesenchymzellen zu beobachten, deren Kerne den Leydigzellkernen ähneln. Allerdings sind ihre Nukleolen nicht wabig, sondern kompakt und sehr groß. Ihr Zytoplasmaanteil ist im Vergleich zur Größe des Kernes gering (Abb.21 Mz). Er enthält nur wenige Organellen: einige schmale rER-Zisternen, wenige längliche Mitochondrien vom Crista-Typ. Viele dieser Zellen weisen ferner zahlreiche Glykogengranula auf, die z.T. zu Aggregaten zusammengelagert sind.

Die hochentwickelten Leydigzellen entsprechen in ihrer Form, Größe und ihrer Lagerung zueinander den im vorigen Abschnitt beschriebenen (Abb.21, 22, 23 Lz).

Auffällig sind wiederum die häufigen gap junctions (Abb.21, 22, 23 gap).

Auch ihre Kerne haben sich nicht verändert. Es treten jedoch in dieser Phase einige degenerierte Leydigzellen auf, die pyknotisch veränderte Kerne besitzen.

Eine Einteilung in hellere und dunklere Leydigzellen kann nicht mehr vorgenommen werden. Das Zytoplasma der reifen Leydigzellen ist locker granuliert und wird fast völlig vom ER verdrängt.

Die Mitochondrien sind zahlreich. Es handelt sich um runde, längliche oder hantelförmig eingeschnürte Gebilde mit deutlichen Cristae (Abb.22 cM, hanM; Abb. 23 cM). Allerdings kommen auch einige Mitochondrien mit Tubulusinnenstruktur vor. Ihre Matrix ist unre-

gelmäßig granuliert.

An der Struktur des Golgi-Komplexes hat sich nichts geändert, er hat sich noch weiter ausgedehnt (Abb. 21 G).

Das endoplasmatische Reticulum ist das beherrschende Organell der hochentwickelten Leydigzellen. Im Gegensatz zur vorigen Phase besteht es nun fast ausschließlich aus oligogranulären oder agranulären Tubuli und Vesikeln, die sehr dicht gepackt sind und teilweise in paralleler Anordnung auftreten. Die Lumina der Vesikel sind unterschiedlich: Einige Vesikel erscheinen erweitert und optisch leer, der Großteil der Vesikel ist flacher und mit flockigem Inhalt gefüllt (Abb.21, 22, 23 ER). In dieser Phase treten in einigen Leydigzellen zu Gruppen zusammengelagerte, kurze oder verzweigte rER-Tubuli auf, die mit einem stark osmiophilen Inhalt gefüllt sind (Abb.23a osER).

Zwischen den ER-Vesikeln ist eine große Menge rosettenförmig angeordneter Polyribosomen vorhanden. In den voll entwickelten Leydigzellen dieses Stadiums tritt im Gegensatz zu den Mesenchymzellen kein Glykogen auf.

An Menge und Anordnung der Lipideinschlüsse hat sich nichts verändert (Abb.21, 22 Li).

Auch die Lysosomen sind weiterhin zahlreich. Häufig konnten auch Myelinstrukturen, z.T. am Rande der Lipideinschlüsse, beobachtet werden (Abb.22, 23 My).

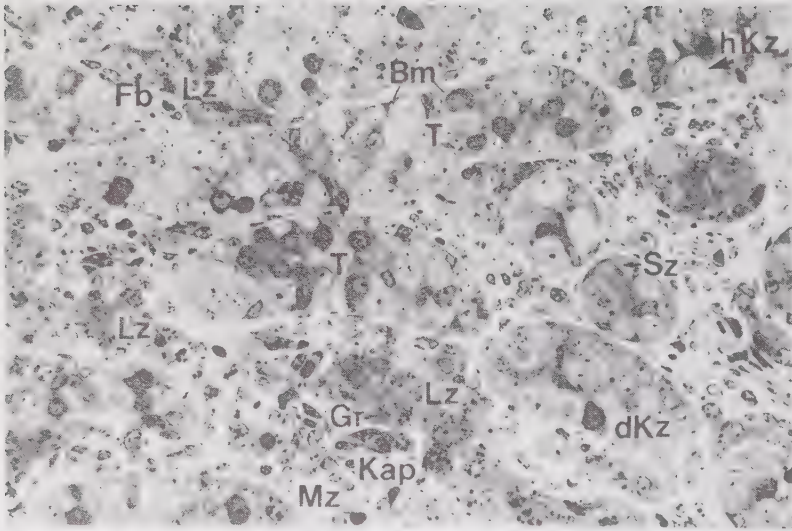


Abb.17: Lichthistologische Ausschnittsvergrößerung aus fetalem Hodengewebe. Tubuluszellen verschiedener Dichte, im Interstitium Aggregationen von Leydigzellen und lockeres, mesenchymales Bindegewebe (SSL 13,5 cm, ca.81.Tag p.c.)
x 500

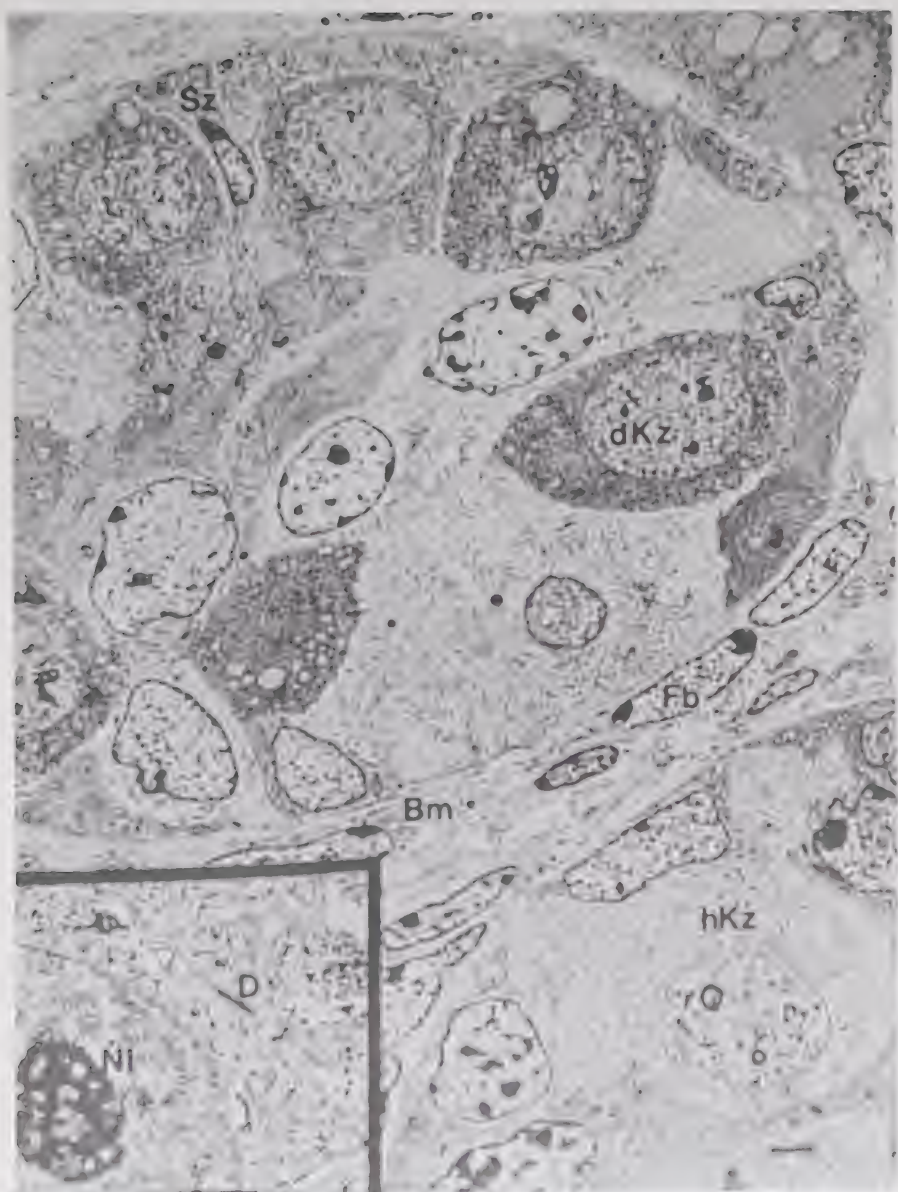


Abb. 18: Querschnitt über Tubuli seminiferi (vgl. Serialschnitt, Abb. 17)
(SSL 13,5 cm, ca. 81. Tag p.c.)

Abb. 18a (Insert): Desmosomenähnliche Verbindung zwischen benachbarten
Keimzellen (SSL 13,5 cm, ca. 81. Tag p.c.)

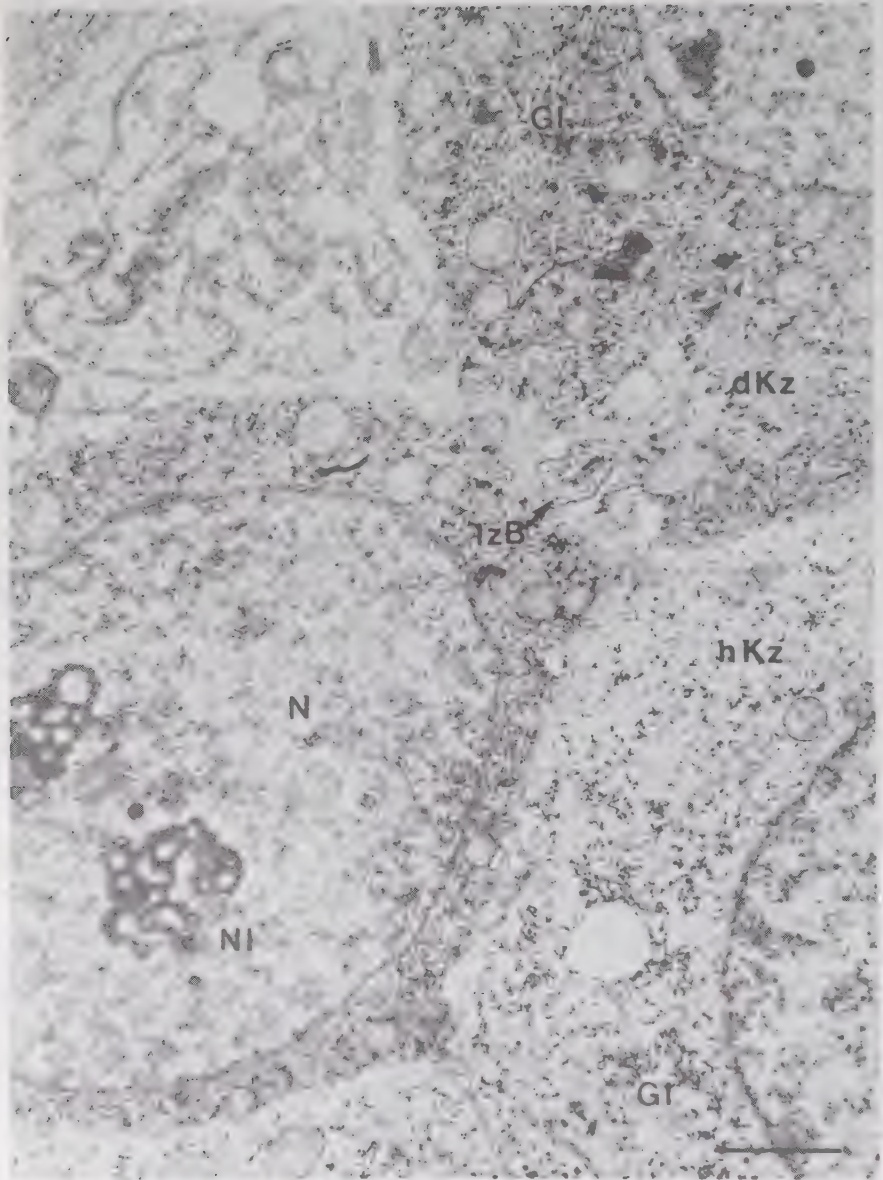


Abb.19: Interzellularbrücke zwischen zwei dunklen Keimzellen
(SSL 13,5 cm, ca.81.Tag p.c.)
IzB = Interzellularbrücke

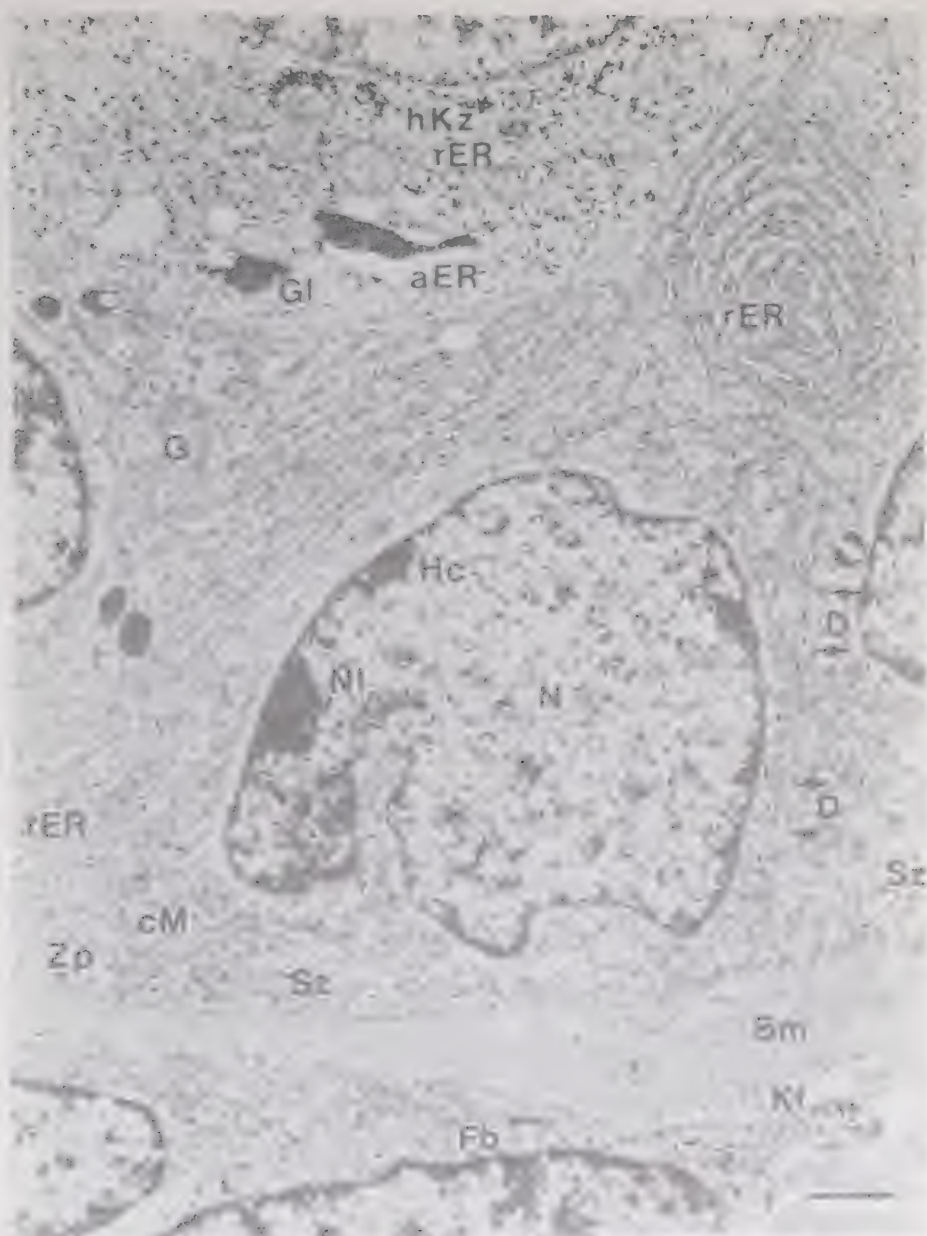


Abb.20: Sertolizelle mit polygonalem Kern, oben Anschnitt einer hellen Keimzelle (SSL 16,3 cm, ca.90.Tag p.c.)

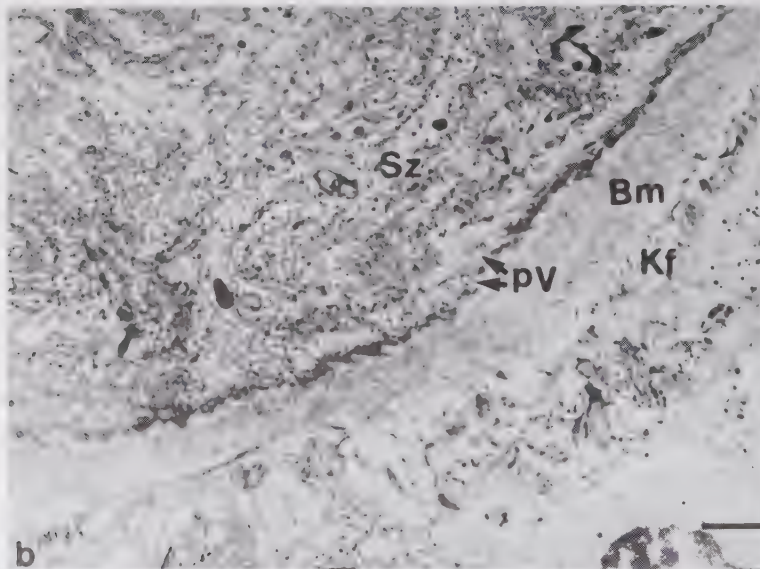
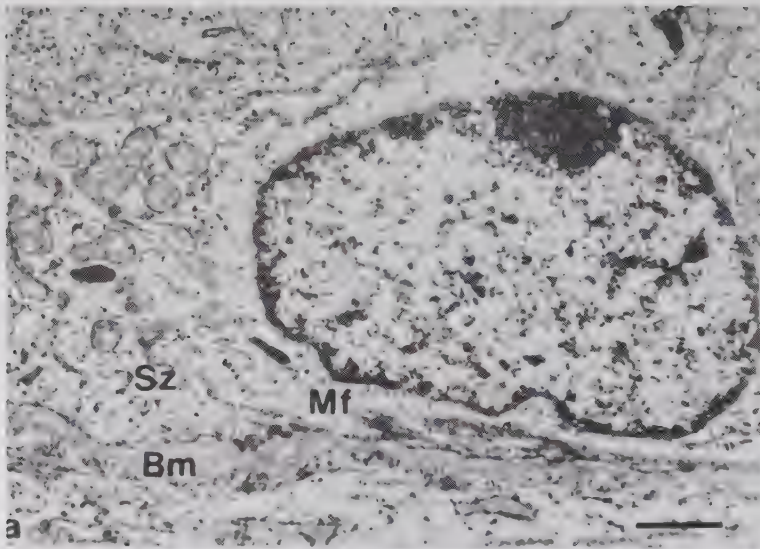


Abb. 20a: Mikrofilamentbündel an der Plasmalemm einer Sertolizelle in enger Nachbarschaft zur Basalmembran (SSL 10,5 cm, ca. 76. Tag p.c.)

Abb. 20b: Pinozytische Vesikel an der Basis einer Sertolizelle (SSL 16,3 cm, ca. 90. Tag p.c.)

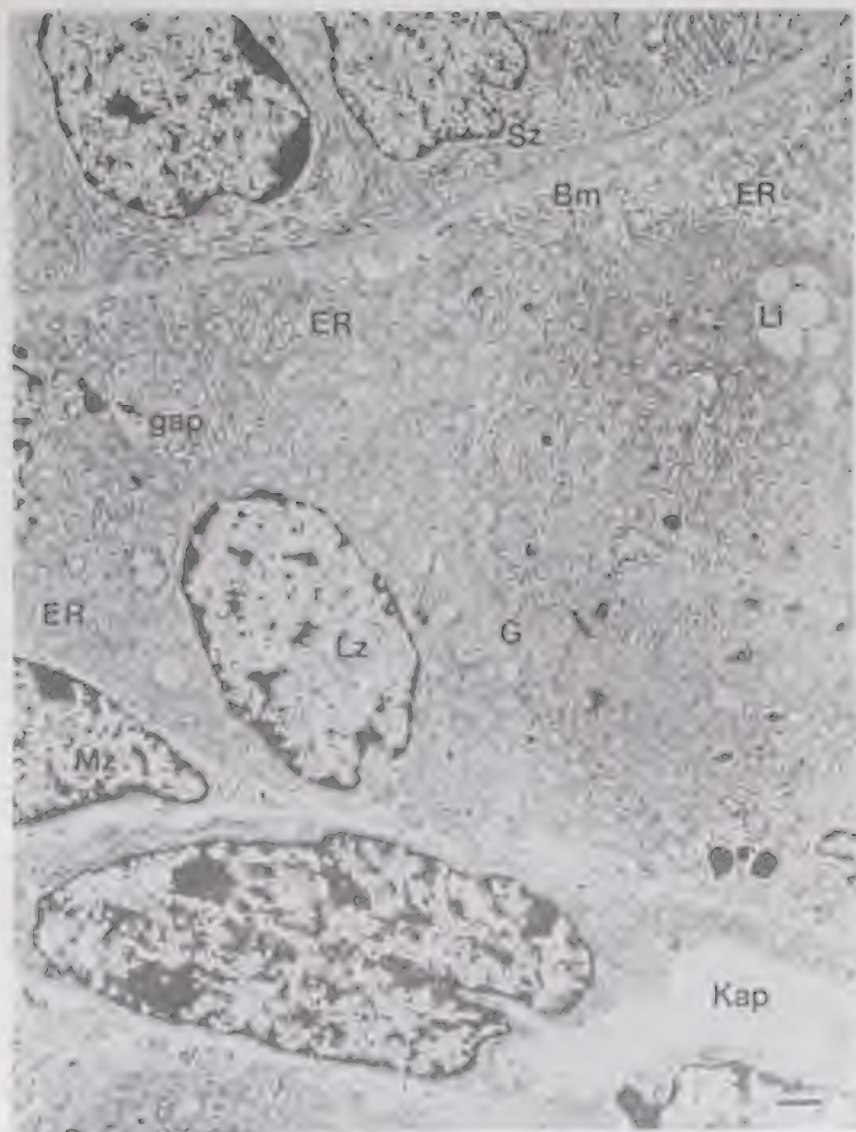


Abb. 21: Anschnitt eines Tubulus seminiferus mit Sertolizellen, differenzierte Leydigzellen und Kapillarwand (SSL 16,3 cm, ca. 90. Tag p.c.)

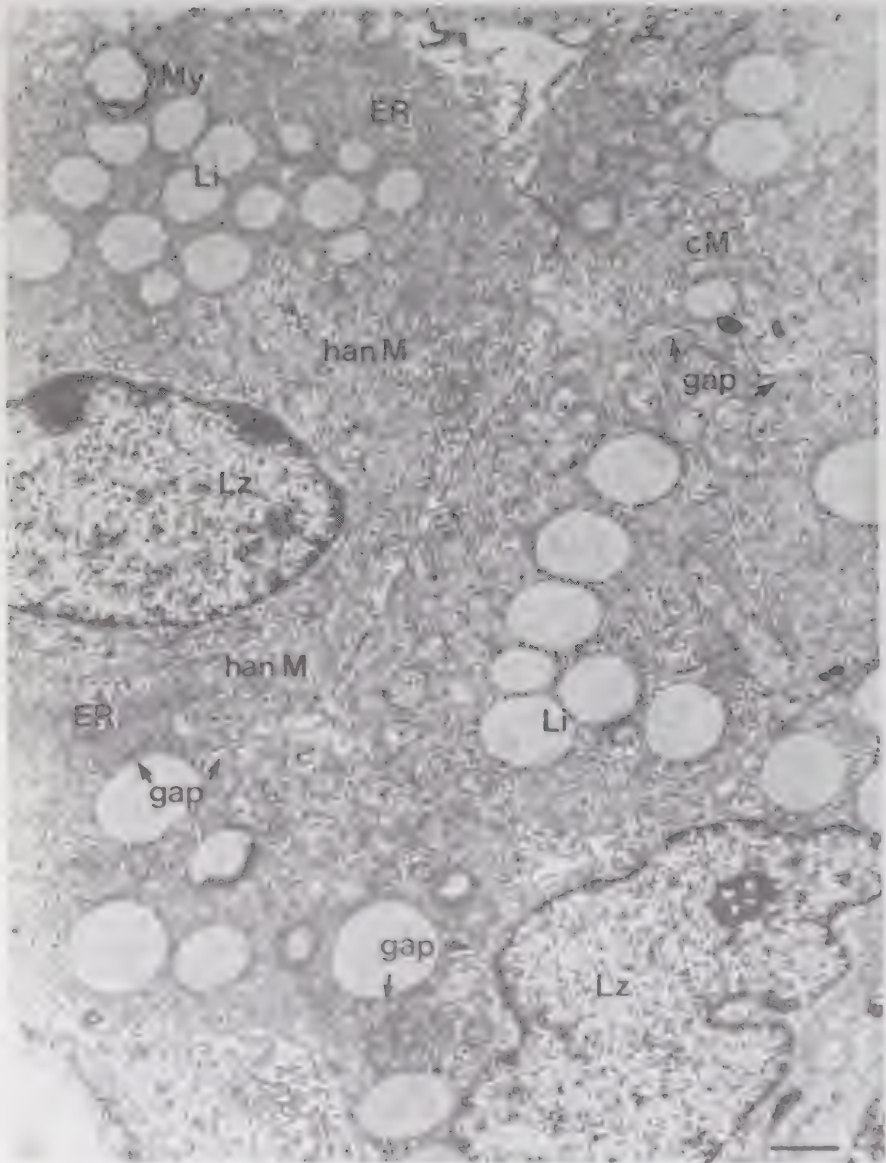


Abb. 37: Querschnittsvergrößerung aus benachbarten, hochdifferenzierten Leydigzellen (SSL 10,5 cm, ca. 76. Tag p.c.)
hanM = hantelförmiges Mitochondrium

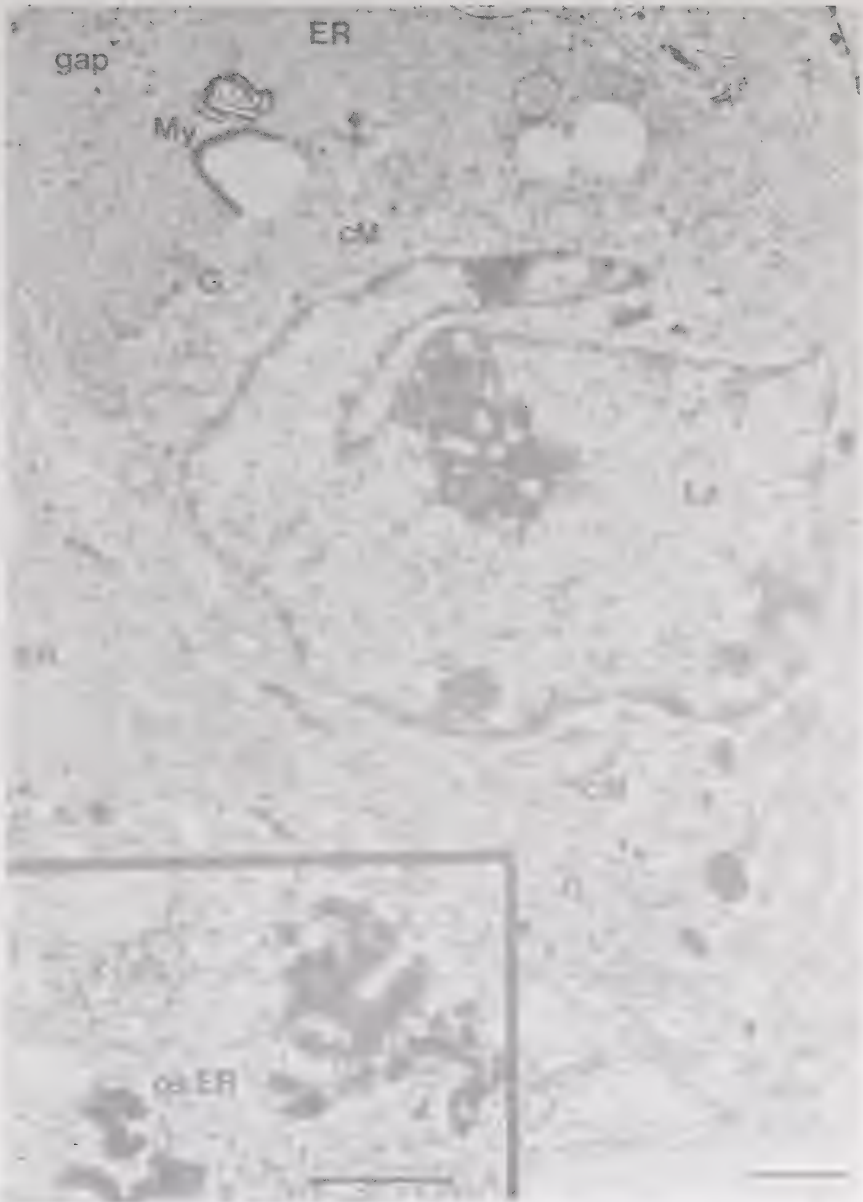


Abb.23: Ausschnittsvergrößerung aus differenzierter Leydigzelle (SSL 10,5 cm, ca.76.Tag p.c.)

Abb.23a (Insert): Stark erweitertes ER mit osmiophilem Inhalt in einer Leydigzelle (SSL 13,5 cm, ca.81.Tag p.c.) osER = osmiophiles ER

4.4. Entwicklungsabschnitt IV:

Feten mit SSL von 23,5 - 70,0 cm
(ca. 110. - 215. Tag p.c.)

4.4.1. Lichtmikroskopische Befunde

An der Ausbildung des Oberflächenepithels hat sich nichts Wesentliches verändert: Es handelt sich um eine Schicht extrem abgeflachter Zellen, deren Kerne entweder sehr flach sind oder sich in einigen Bereichen leicht vorwölben (Abb.25 Ke).

Die Tunica albuginea dagegen ist noch breiter geworden. Sie gliedert sich deutlich in eine Tunica fibrosa und vasculosa auf (Abb.25 Tf, Tv). Die Tunica fibrosa besteht nun jedoch aus einer äußeren Schicht locker und unregelmäßig angeordneter Fibrozyten und einer darunter liegenden Zone aus sehr dicht parallel geschichteten Fibrozyten mit sehr vielen dazwischen gelagerten Kollagenfasern (Abb.25 Kf). Die Tunica vasculosa enthält zahlreiche Gefäße, die nun schon weit differenziert sind. Es sind deutlich Arterien und Venen mit ihrem typischen Wandaufbau zu erkennen.

Die auffälligste Veränderung, die in diesem späten Entwicklungsabschnitt im Hoden vonstatten geht, ist die Rückbildung des vorher stark differenzierten Interstitiums bei seiner gleichzeitigen räumlichen Ausdehnung. Die Tubuli seminiferi werden immer weiter auseinander gedrängt und kommen schließlich als kurze, gewundene Gebilde inmitten eines sehr lockeren, interstitiellen Bindegewebes zu liegen (Abb.26, 30 T, I). Der Flächenanteil des Interstitiums steigt dabei auf das Drei- oder Vierfache der von den Tubuli bedeckten Fläche an.

Die Tubuli seminiferi stellen sich in den peripheren Bereichen im Schnittbild als Quer- und Schrägschnitte, in den weiter zentral gelegenen Bereichen als Längsschnitte dar (Abb.24 T).

Die Tubuluszellen sind deutlich in die zwei Zellpopulationen einzuteilen. Die Keimzellen sind groß, rund und hell mit ebenfalls großen, runden Kernen, deren Chromatin meist relativ homogen, seltener jedoch unregelmäßig granuliert ist. Sie liegen einzeln oder in Paaren, entweder in der Tubulusperipherie (z.T. direkt an der Basalmembran) oder auch zentral im Tubulus (Abb.24, 26 Kz). Ihre Zahl pro Tubulusanschnitt nimmt leicht ab. Dunkle Keimzellen kommen nicht mehr vor.

Bis auf vereinzelte, dunkel gefärbte, schmale Zellen sind die Sertolizellen nun relativ einheitlich gefärbt. Mit zunehmendem Entwicklungsalter reihen sie sich immer deutlicher nebeneinander an der Basalmembran auf, erlangen hochprismatische Form und einen basalständigen, runden oder ovalen Kern mit mehreren prominenten Nukleolen und deutlich sichtbarer Kernmembran (Abb.26 Sz). Die im vorigen Abschnitt erwähnten Zytoplasmaausläufer ins Tubuluszentrum sind weiterhin zu beobachten.

Das Interstitium verändert sich sehr stark, wie bereits oben erwähnt. Zunächst ist es noch recht zellreich, doch wird das Bindegewebe zunehmend lockerer. Die Leydigzellen verschwinden bis auf sehr wenige Inseln und verstreut liegende, nun jedoch wesentlich kleinere Zellen (Abb.26 Lz). Dunkle Granula sind nun nicht mehr zu beobachten, dagegen treten häufig zahlreiche vakuoläre Aufhellungen in ihrem Zytoplasma auf. Pyknotische Kerne konnten jedoch nur in wenigen Fällen beobachtet werden. Während die Leydigzellen zunehmend verschwinden, nehmen die um die Tubuli ge-

lagerten Fibroblasten auf zwei bis drei Schichten
- bei den ältesten der untersuchten Feten - zu
(Abb.26 Fb).

An der Struktur des Rete testis hat sich im Vergleich zum vorigen Stadium nichts verändert (Abb. 24 Rt).

4.4.2. Die Ultrastruktur der Keimzellen

Die Lokalisation der Keimzellen im Tubulus entspricht der im Abschnitt III geschilderten. Desmosomenähnliche Verbindungen zu angrenzenden Sertolizellen kommen nur gelegentlich vor, Interzellularbrücken konnten in diesem Entwicklungsabschnitt nicht beobachtet werden.

Die Keimzellen besitzen ovale Form, ihre durchschnittliche Größe ist auf $12,4 \times 9,0 \mu\text{m}$ angestiegen.

Der Zellkern ist ebenfalls leicht oval und $7,3 \times 5,9 \mu\text{m}$ groß (Abb.27 Kz). . In Ausnahmefällen liegt ein eingedellter, pyknotischer Kern vor.

An der Ausbildung der perinukleären Zisterne hat sich im Vergleich zum vorigen Stadium nichts verändert.

Das Chromatin ist meist locker, fein granuliert und enthält mehrere kleine Heterochromatinaggregate.

Der Nucleolus ist meistens groß, prominent, exzentrisch gelagert und von auffälliger Netzstruktur, in deren Maschen die Pars amorpha eingelagert ist (Abb.27 N1), seltener trifft man jedoch auch ein bis zwei kleine Nucleoli an, deren Netzstruktur nur undeutlich ausgebildet ist.

Das Zytoplasma ist sehr locker und fein granuliert, wodurch sich die Keimzellen deutlich von den mit dicht gelagerten ER-Zisternen angefüllten Sertolizellen abheben (Abb.27 Kz, Sz).

Die Zellorganellen sind spärlich.

Die Mitochondrien, die sich in einigen Zellen entweder in lockerem Ring um den Kern oder an einem Kernpol gruppieren (Abb.27 M), besitzen sowohl runde als auch längliche, seltener hantelförmige Gestalt. Ihre Innenstruktur ist sehr unter-

schiedlich: Die Variationsbreite reicht von Tubuli über die Ausbildung von Zwischenformen bis zu deutlichen Cristae in den länglichen Mitochondrien. In diesem Stadium treten zuweilen einige durch elektrodichtes Material, dem "intermitochondrialen Zement" verbundene Mitochondrien auf (Abb.28 ➡).

Das Golgi-Feld ist in Kernnähe lokalisiert und gut entwickelt, läßt sich jedoch nur schwer von den aER-Schläuchen und Vesikeln in der Nachbarschaft abgrenzen.

Das nur in geringer Menge vorhandene endoplasmatische Reticulum tritt in zwei Formen auf: Neben z.T. sehr langen, dünnen rER-Zisternen (Abb.27 rER) findet sich das bereits im dritten Abschnitt geschilderte aER, allerdings in geringer Menge (Abb.29 aER). Häufig steht es entweder mit Mitochondrien in Verbindung oder erweitert sich zu Zisternen, die die Größe von "Vakuolen" erreichen können (Abb.29 V).

Die Vakuolen, in einigen Keimzellen in großer Menge und Ausdehnung enthalten, besitzen fein granulierten Inhalt oder sind elektronenoptisch leer. Gelegentlich treten sie auch innerhalb des Kernes auf, wobei der Kern dann eine marginale Chromatinkondensation aufweist (Abb.29 N, V).

Im Zytoplasma kommen wiederum Ribosomen, einzeln oder als Polyribosomen vor. Ihre Menge ist allerdings geringer als bisher.

Ein in diesem Stadium erstmals beobachteter Zellbestandteil ist der multivesikuläre Körper. Er ist kleiner als die umliegenden Mitochondrien und besteht aus mehreren runden, elektronendichten Vesikeln, die von einer Membran begrenzt sind.

Glykogen, das bereits gegen Ende des dritten Abschnittes völlig verschwunden ist, tritt ab einer

Größe von ca. 46 cm SSL wieder auf, jedoch in geringerer Menge und nur selten zu Aggregaten zusammenlagert (Abb.27 Gl).

Die Lipideinschlüsse sind nun völlig verschwunden, Myelinkörper sind selten (Abb.27 My).

Chromatoid bodies (oder "nuage") werden nun im Gegensatz zu früheren Stadien häufig beobachtet (Abb.29 Cb). Sie kommen sowohl im Zytoplasma als auch im Kern vor.

In dieser letzten Phase der Fetalentwicklung sind Mitosen der Keimzellen selten. Anzeichen von Degeneration wie z.B. ein pyknotischer Kern, große vakuoläre Räume in Zytoplasma und Kern, an der Kernmembran kondensiertes Chromatin, weitgehendes Fehlen von Organellen, findet man dagegen häufig (Abb. 29).

4.4.3. Die Ultrastruktur der Sertolizellen

Auch in diesem Stadium treten anfangs noch viele gedrun-gen-polygonale Sertolizellen auf, die sich nicht in der Helligkeit unterscheiden. Diese verschwinden jedoch mit zunehmendem Entwicklungsalter bis 70 cm SSL völlig zugunsten der hochprismatischen Zellform, die wieder helle und dunkle Zellvarianten aufweist. Auffällig ist, daß vor allem die selteneren dunklen Sertolizellen lange schmale Zytoplasmakeile ins Tubuluszentrum aussenden (Abb.27 dSz). Die Sertolizellen fußen nun fast ausnahmslos auf der Basalmembran: die hochprismatischen hellen und dunklen Varianten senkrecht zum Tubulusquerschnitt, die gedrun-genen, homogengefärbten auch längs zur Basalmembran.

Insgesamt sind die Sertolizellen kleiner als die Spermatogonien (Abb.26 Sz, Kz).

Zellverbindungen zwischen Sertolizellen treten nur noch gelegentlich auf.

Die Kerne der Sertolizellen sind deutlich kleiner als die Keimzellkerne. Ihr durchschnittlicher Durchmesser beträgt 4,5 µm. Sie sind meist rund-oval oder leicht eingedellt, die Kerne der dunklen Sertolizellen sind gelegentlich tief und unregelmäßig eingekerbt. Ihre Lage im Zytoplasma ist bei den polygonalen Sertolizellen zentral, bei den hochprismatischen jedoch immer exzentrisch basalständig. Es entsteht das charakteristische Bild an der Basalmembran nebeneinander senkrecht aufgereihter Sertolizellen mit basalständigen Kernen (Abb.26 Sz). Die perinukleäre Zisterne der Sertolizellen ist häufig mit flockigem Inhalt gefüllt. An der Kernmembran befindet sich ein Streifen kon-

densierten Chromatins, der vor allem bei den dunklen Sertolizellen sehr deutlich ausgebildet ist. Zusätzlich sind häufig Heterochromatinaggregate angelagert (Abb.27 dSz).

Das Chromatin ist im übrigen unregelmäßig flockig, bei den hellen Sertolizellen locker, bei den dunklen Sertolizellen dichter. Alle Sertolizellkerne sind jedoch dichter als die benachbarten Keimzellkerne.

Die Nukleolen entsprechen den oben geschilderten. Das Zytoplasma ist zunächst in allen Sertolizellen, dann nur noch in den hellen Sertolizellvarianten locker granuliert, in den dunklen dagegen relativ dicht.

Auch die Mitochondrien haben sich nicht verändert. In einigen dunklen Sertolizellen sind sie wiederum sehr schwer von den umliegenden erweiterten und gefüllten ER-Zisternen zu unterscheiden. Infolge ihrer elektronendichten Matrix läßt sich ihre Crista-Innenstruktur nur undeutlich erkennen.

Der Golgi-Apparat ist klein und setzt sich aus nur wenigen Membransäckchen und Vesikeln zusammen.

Das endoplasmatische Reticulum liegt bei den polygonalen Sertolizellen als flache, mittellange bis kurze rER-Zisternen vor, die in lockeren parallelen Bündeln, in Wirbeln oder unregelmäßig im Zytoplasma verstreut liegen. Außerdem können die ER-Zisternen auch tubulusähnlich erweitert und mit einer mäßig elektronendichten Matrix gefüllt sein und in relativ geringer Zahl vorliegen. Mit vermehrtem Auftreten der hochprismatischen Sertolizellen erfährt das ER wiederum eine starke mengenmäßige Zunahme und Differenzierung. Das ER in dieser Phase unterscheidet

sich in der Menge der ER-Zisternen, der Ribosomen und in der Dichte des Zisterneninhaltes. Die Sertolizellen besitzen sehr kurze bis sehr lange, häufig erweiterte rER-Zisternen, die entweder unregelmäßig im Zytoplasma verstreut liegen und im Schnittbild als Bläschen und Schläuche erscheinen oder spiralförmig angeordnet sind. Das ER der hellen Sertolizellen ist locker gelagert, mit elektronenhellem Inhalt gefüllt und mäßig vielen Ribosomen besetzt, wogegen das Zytoplasma der dunklen Sertolizellen mit ER-Zisternen ausgefüllt erscheint, deren Inhalt elektronendichter ist und die etwas mehr Ribosomen tragen (Abb.27 hSz, dSz, ER).

Die Zahl der freien Ribosomen im Zytoplasma ist hoch.

Glykogen tritt als vereinzelte Granula gelegentlich in dunklen Sertolizellen auf.

Ebenfalls in den dunklen Sertolizellen sind häufig große, lamellenartig geschichtete Myelinkörper enthalten (Abb.27 Sz, My).

Lysosomen und multivesikuläre Körper sind ebenfalls in den dunklen Sertolizellen zahlreicher als in den hellen (Abb.27 Sz, Ly).

An der basalmembranständigen Plasmalemma angeheftete Mikrofilamentbündel sind häufig und sehr deutlich ausgebildet.

Mitosen sind in diesem späten Stadium seltener, jedoch ist die Zahl der Sertolizellen, verglichen mit den Keimzellen, sehr hoch (Abb.26 Sz, Kz).

4.4.4. Die Ultrastruktur der Basalmembran des Tubulus seminiferus

In diesem späten Stadium erfährt die den Tubulus seminiferus umgebende Basalmembran eine enorme Zunahme.

Bei den jüngsten in dieser Entwicklungsphase untersuchten Feten ist die Basalmembran durchschnittlich 0,4 μm dick und setzt sich aus 4 bis 5 Lamellen zusammen. Bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes steigt diese lamellenartige Schichtung auf 7 bis 10 deutliche Lagen an. Es können jeweils eine Lamina rara und eine Lamina densa unterschieden werden (Abb.27 Bm). Ihre durchschnittliche Dicke steigt bis auf 1,2 μm an (Abb.30, 30a Bm).

Um die Basalmembran des Tubulus sind, wie bereits im Kapitel "Lichtmikroskopische Befunde" beschrieben, ca. 2 bis 3 Schichten sehr flacher, zirkulär angeordneter Fibroblasten angelagert.

Zwischen Basalmembran und Fibroblasten liegen vereinzelte Kollagenfibrillen, die quer oder schräg geschnitten sind.

4.4.5. Die Ultrastruktur der Leydigzellen

In diesem Stadium nehmen die Leydigzellen weiter an Zahl ab.

Das Interstitium besteht aus locker gelagerten Mesenchymzellen, Kapillaren und mehr oder weniger rückgebildeten Leydigzellen, dazwischen liegen große Interzellularräume (Abb.31 Lz, Iz).

Die voll differenzierten Leydigzellen (Zytoplasma mit aER-Tubuli dicht gepackt, zahlreiche Lipideinschlüsse) sind im Vergleich zum vorigen Stadium selten. Gelegentlich liegen zwei differenzierte Leydigzellen direkt aneinander, in diesem Bereich kommen wiederum gap junctions vor (Abb.32 gap).

Die Form der Leydigzellen ist polygonal mit unregelmäßigen Zytoplasmaausläufern (Abb.31 Lz).

Die rückgebildeten Leydigzellen sind deutlich kleiner als die vollentwickelten, wobei vor allem der Zytoplasmaanteil reduziert ist. Neben den noch differenzierten und den bereits rückgebildeten Leydigzellen treten zahlreiche Zwischenstufen auf (Abb.31 Lz).

Die Kerne der Leydigzellen liegen exzentrisch im Zytoplasma. Sie sind unregelmäßig eingekerbt oder zeigen sich je nach Schnittführung auch rund. Wie schon im vorigen Stadium tritt gelegentlich eine degenerativ veränderte Zelle mit einem pyknotischen Zellkern auf.

Das Zytoplasma der Leydigzellen ist mäßig dicht granuliert und enthält nun wesentlich weniger ER-Zisternen (Abb.31, 32 ER).

Die Mitochondrienanzahl ist noch relativ hoch. An ihren Formen und ihrer Anordnung hat sich im Vergleich zum vorigen Stadium nichts verändert (Abb.31 M). Allerdings treten neben den zahlreichen Cristae in ihrer Matrix auch einige Tubuli und gelegentlich kleine, runde osmiophile Einschlüsse auf. Selten finden sich einige, durch osmiophiles Material aneinander geheftete Mitochondrien (Abb.31 ➡).

Das Golgi-Feld ist je nach Differenzierungsgrad der Gesamtzelle noch gut entwickelt als Golgi-Zentrum (Abb.31 G) oder schon deutlich in seiner Ausdehnung reduziert.

Die Menge und Anordnung des endoplasmatischen Retikulums hat stark abgenommen, wobei nebeneinander verschiedene Ausprägungen vorliegen. Während in einigen Fällen zahlreiche tubulär erweiterte ER-Zisternen mit elektronenoptisch hellem Inhalt vorliegen, die entweder agranulär oder oligogranulär sind, besitzen andere Leydigzellen lange schmale rER-Zisternen in vergleichsweise geringer Zahl (Abb.31 rER). Ihr Inhalt ist elektronenoptisch dichter. Neben diesen beiden Formen treten in Leydigzellen mit pyknotischen Kernen "perlschnurartige" Wirbel aus fenestrierten aER-Zisternen auf, die optisch leer sind (Abb.31 vER). Innerhalb der in diesem Stadium untersuchten Feten überwiegt die tubuläre aER-Form bei den jüngeren Feten, die Form mit den flachen rER-Zisternen bei den älteren.

Ebenfalls bei den jüngeren Feten dieser Phase traten häufiger Zellen mit den schon oben erwähnten verzweigten, stark osmiophilen rER-Tubuli auf.

Lipideinschlüsse liegen in den differenzierten Leydigzellen vor, in den rückgebildeten Leydigzellen fehlen sie jedoch ganz (Abb.31).

Glykogen tritt in den noch als Leydigzellen zu identifizierenden Zellen nicht auf. Die dazwischen lokalisierten pluripotenten, undifferenzierten Mesenchymzellen (Abb.31 Mz, Gl), ebenso die Kapillarendothelien und Perizyten beinhalten dagegen Glykogengranula.

Lysosomen treten noch immer in großer Zahl auf.

Wie oben schon erwähnt, ist die Zahl der degenerativ veränderten Leydigzellen recht gering. Sie zeichnen sich entweder durch pyknotische Kerne, perlschnurartig erweiterte, optisch leere aER-Tubuli und dicht granuliertes Zytoplasma aus oder es finden sich extrazellulär gelegene Leydigzell-Organellen nach Lysis der Zellmembran (Abb.32 Lz-Or).

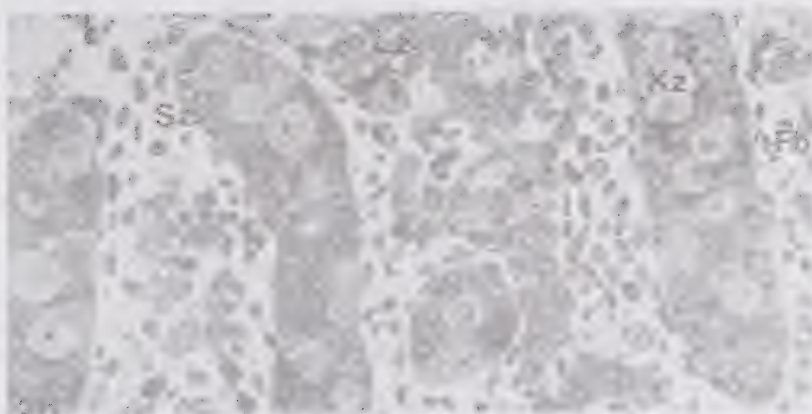
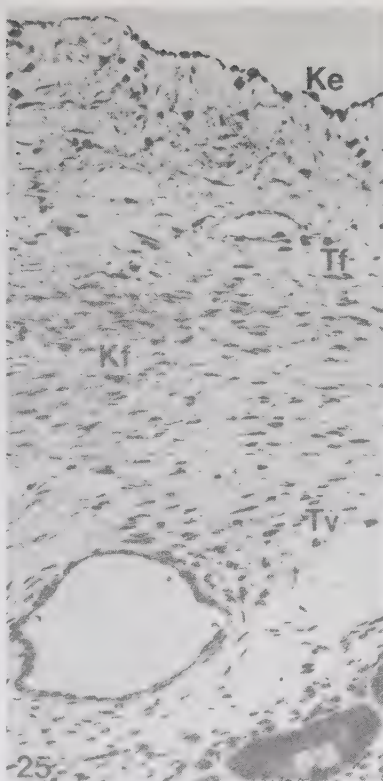
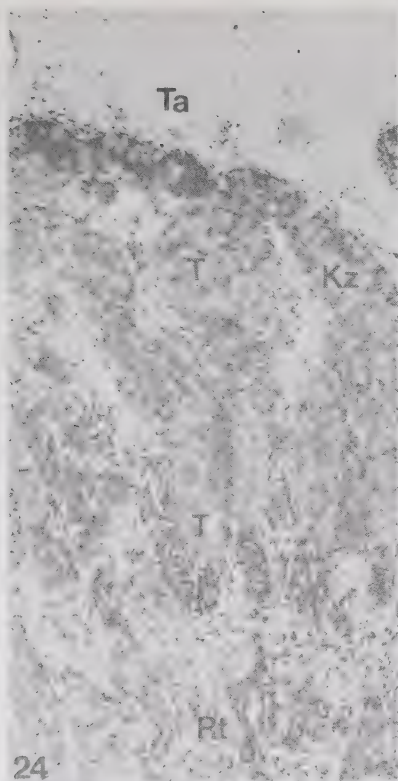


Abb.24: Hodenquerschnitt mit Tunica albuginea, Tubuli seminiferi und Rete testis (SSL 23,5 cm, ca.110.Tag p.c.) x 160

Abb.25: Tunica albuginea mit Keimdrüsenepithel (SSL 46,0 cm, ca.165.Tag p.c.) x 400

Abb.26: Weit auseinander gedrängte Tubuli seminiferi, Leydigzellen und interstitielles Bindegewebe (SSL 46,0 cm, ca.165.Tag p.c.) x 640



Abb.27: Ausschnitt aus der Wand eines Tubulus seminiferus mit Keimzellen, hellen und dunklen Sertolizellen und verdickter Basalmembran (SSL 70,0 cm, ca.215.Tag p.c.)

Abb.28 (Insert): Ausschnittsvergrößerung aus einer Keimzelle: durch intermitochondrialen Zement verbundene Mitochondrien (SSL 70,0 cm, ca. 215.Tag p.c.)

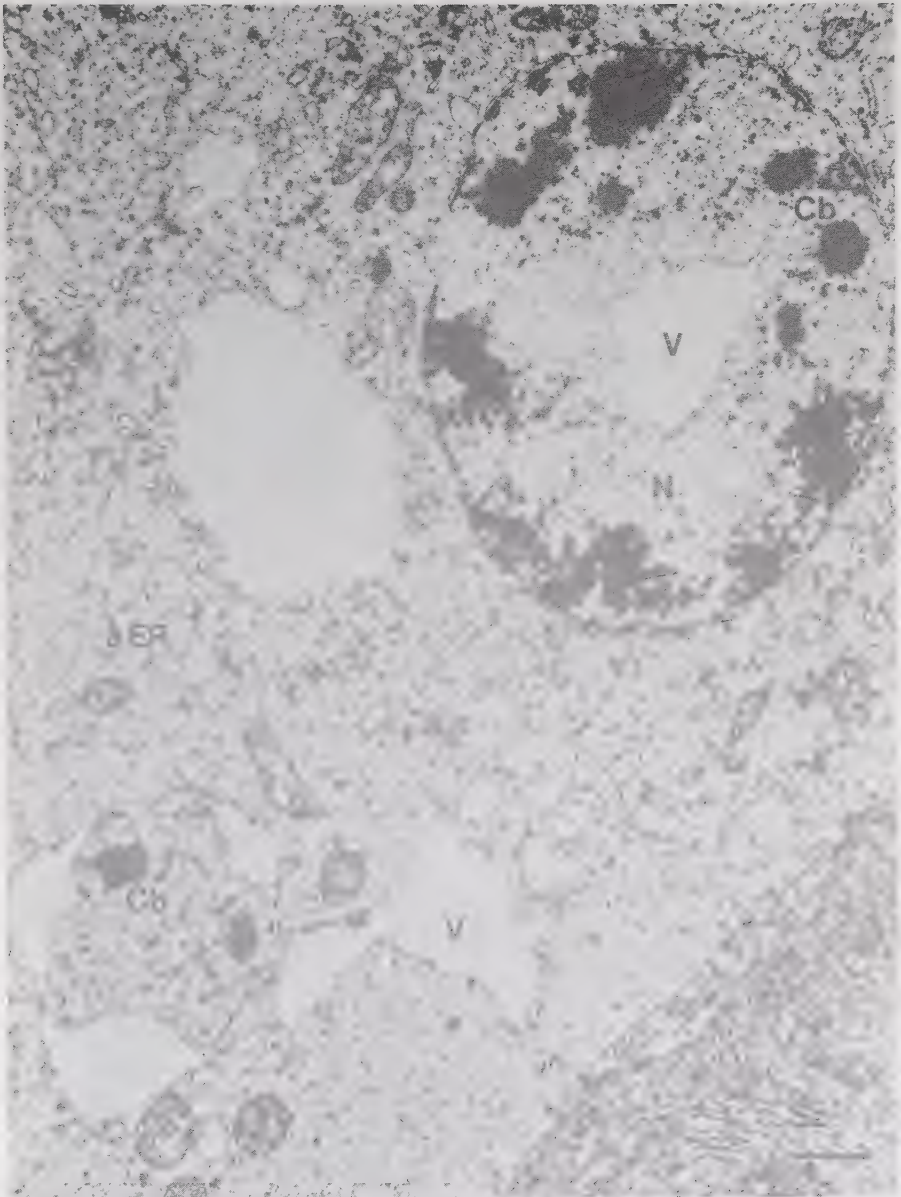


Abb.29: Degenerierende Keimzelle mit marginal kondensiertem Chromatin und Vakuolen im Kern und Zytoplasma (SSL 47,0 cm, ca.169.Tag p.c.)



Abb.30 : Selektive Anfärbung der stark verdickten Basalmembran
(SSL 70,0 cm, ca.215.Tag p.c.) x 220

Abb.30a: Ausschnittsvergrößerung aus Abb.30 x 640

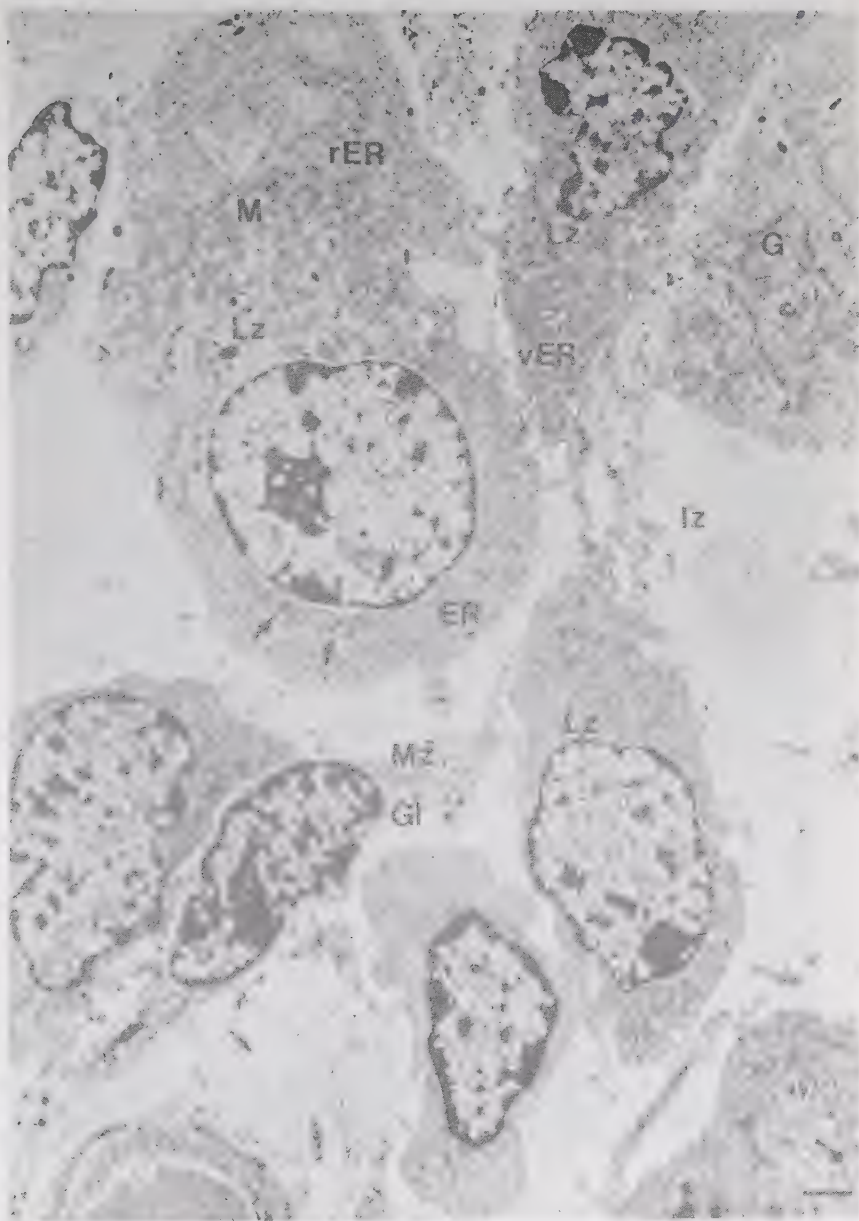


Abb.31: Leydigzellen in unterschiedlich starker Involution (SSL 70,0 cm, ca. 215.Tag p.c.)

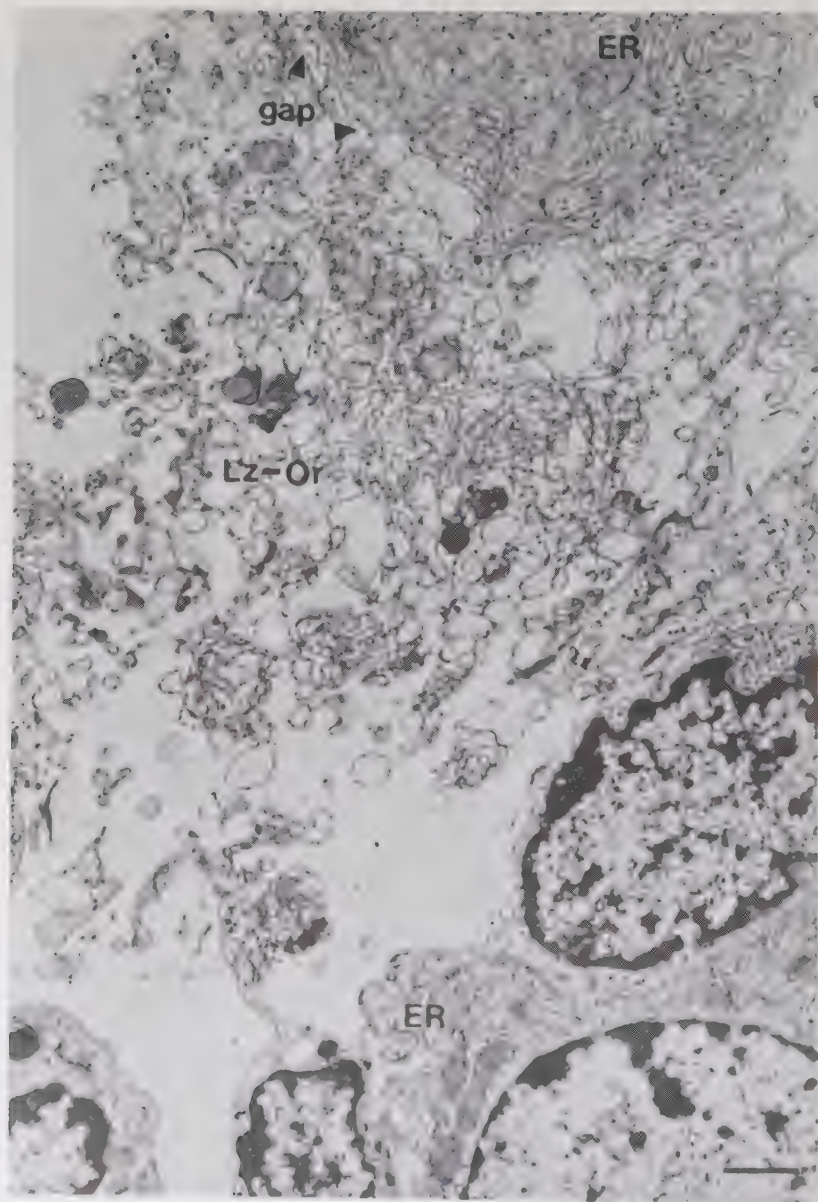


Abb. 12: Degenerierte Leydigzelle mit teilweise fragmentierten Organellen (Mitochondrien, vesikuläres ER und noch bestehende gap junction zu angrenzender Leydigzelle) (SSL 70,0 cm, ca. 215. Tag p.c.)

Lz-Or = Leydigzell-Organellen

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

aER	agranuläres ER
Bm	Basalmembran
Cb	chromatoid bodies
cM	Mitochondrium vom Crista-Typ
D	Desmosom
Eb	Erythroblast
ER	endoplasmatisches Reticulum
Fb	Fibroblast
G	Golgi-Apparat
Ga	Gonadenanlage
gap	gap junction
Gl	Glykogen
Gr	Granula
Gv	Golgi-Vesikel
Hc	Heterochromatin
I	Interstitium
Iz	Interzellularraum
Kap	Kapillare
Ke	Keimdrüsenepithel
Kf	Kollagenfibrille
Kst	Keimstränge
Kz	Keimzelle
Li	Lipoid
Ly	Lysosom
Lz	Leydigzelle
M	Mitochondrium
Mf	Mikrofilament
Mto	Mitose
My	Myelin
Mz	Mesenchymzelle
N	Nucleus
Nl	Nucleolus
Nu	Nexus
oE	osmiophiler Einschluß
P-Sz	Präsertolizelle
pV	pinozytotische Vesikel
pZ	perinukleäre Zisterne
rER	ribosomales ER
Rt	Rete testis
Sep	Septum
spM	spindelförmige Mesenchymzelle
Sz	Sertolizelle
T	Tubulus
Ta	Tunica albuginea
Tf	Tunica fibrosa
tM	tubuläres Mitochondrium
Tr	Tubulus rectus
Tv	Tunica vasculosa
Un	Urniere
V	Vakuole
vER	"vakuolär" erweitertes ER
Zp	Zytoplasma

Die Meßlinie am unteren Bildrand entspricht in sämtlichen Abbildungen einer Länge von 1 μm .

5. Diskussion

Die Differenzierung der männlichen Keimdrüse unterliegt bei den verschiedenen Säugetieren weitgehend übereinstimmenden Regelmechanismen und Struktureigentümlichkeiten, die ein gemeinsames biologisches Entwicklungsprinzip erkennen lassen. In diese immer wiederkehrende Kette frühembryonaler Differenzierungsabläufe können im wesentlichen auch die vorliegenden Ergebnisse zur Entwicklung des Testis beim Rind eingeordnet werden. Darüberhinaus treten jedoch auch tierartspezifische Merkmale des Rindes auf.

Sind die Fragen zur strukturellen Entwicklung in den Grundzügen eingehend beschrieben, bestehen doch über die Nomenklatur der einzelnen Differenzierungsschritte oftmals erhebliche Abweichungen.

Holstein et al. (1971) unterteilen die fetale Differenzierung der Keimzellen des Menschen nach morphologischen Kriterien in Gonozyten und fetale Spermatogonien, Fukuda et al. (1975) definieren, ebenfalls nach morphologischen Kriterien, Gonozyt, "intermediate cell" und Spermatogonie. Gondos u. Hobel (1971) dagegen grenzen die Gonozyten des Menschen aufgrund ihrer Lokalisation im Tubulus seminiferus von den fetalen Spermatogonien ab. Die Vielfalt dieser Definitionen verwirrt. Keine dieser Einteilungen konnte mit hinreichender Sicherheit, trotz übereinstimmender Einzelbefunde, auf die besonderen Verhältnisse der Keimzell-Differenzierung des Rindes übertragen werden. Aus diesem Grunde wurde die gesamte Entwicklung der Keimzellen lediglich in vier chronologische Abschnitte eingeteilt.

Die charakteristischen Strukturmerkmale dieser Stadien sind für die Keimzell-Differenzierung vereinfacht in Schema 1 (a-d) zusammengestellt. Die strukturellen Schwerpunkte der Entwicklung sind folgende:

1. 2,0 - 5,5 cm SSL:

Vor Bildung der Keimstränge liegen die Keimzellen im lockeren Mesenchymnetz in engem räumlichem Kontakt zu einer Mesenchymzelle; die Zellorganellen sind spärlich; im Kern und Zytoplasma tritt nuage auf.

2. 5,6 - 9,5 cm SSL:

Die Keimzellen haben sich leicht vergrößert; sie liegen nur noch im Tubulus (im Zentrum und in der Peripherie); es treten Nexūs und Interzellularbrücken zwischen Keimzellen auf; zu Sertolizellen sind desmosomenähnliche Verbindungen ausgebildet; helle und dunkle Keimzellvarianten sind zu erkennen.

3. 10,5 - 21,0 cm SSL:

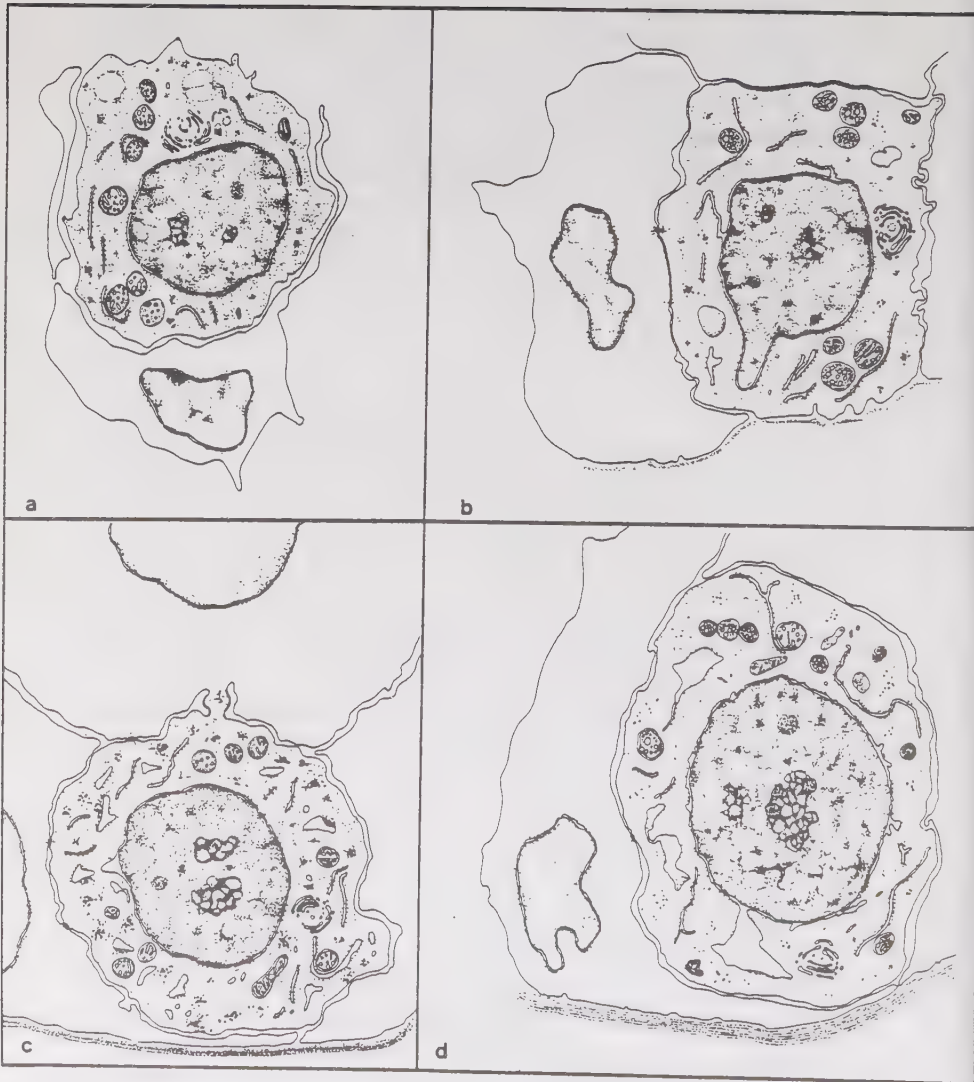
Interzellularbrücken kommen häufiger vor, die Nexūs sind verschwunden; es sind deutlich größere helle und kleinere dunkle Keimzellen zu erkennen; der Kern weist auffällige Netzstrukturen auf; das Zytoplasma enthält zahlreiche Glykogengranula, die bis gegen Ende dieser Phase wieder verschwinden; nuage ist relativ häufig.

4. 23,5 - 70,0 cm SSL:

Die Keimzellen haben an Größe zugenommen; Interzellularbrücken können nicht mehr beobachtet werden; die Mitochondrien treten in Gruppen auf und sind gelegentlich durch intermitochondrialen Zement verbunden; gegen Ende dieses Stadiums tritt wieder Glykogen auf; nuage ist relativ häufig.

Insgesamt handelt es sich bei den Keimzellen um rundo-ovale Zellen mit runden Kernen, deren Größe kontinuierlich zunimmt. Ihre Struktur ähnelt stark den bei Oogonien beobachteten morphologischen Merkmalen (Rüsse 1983).

Ihre Zellorganellen sind spärlich ausgebildet, da es sich um Zellen handelt, deren Hauptaktivität in mitotischen Teilungen besteht. Von Zamboni u. Merchant (1973) wird die Fetalzeit als "relative Ruhephase" der Keimzellen bezeichnet.



Schema 1: Strukturelle Differenzierung der fetalen männlichen Keimzellen des Rindes

a: 2,0 - 5,5 cm SSL

b: 5,6 - 9,5 cm SSL

c: 10,5 - 21,0 cm SSL

d: 23,5 - 70,0 cm SSL

Während der gesamten Fetalperiode beinhalten die Keimzellen des Rinderhodens ein feingranuläres, elektronendichtes Material in Kern und Zytoplasma, das als "nuage" oder "chromatoid bodies" bezeichnet wird. Eine lt. Eddy (1974) andere Erscheinungsform von nuage, der intermitochondriale Zement, ist jedoch erst gegen Ende der Fetalperiode des Rindes zu beobachten.

Die Funktion von nuage ist unklar. Es wurde die Vermutung aufgestellt, daß es sich um vom Nukleolus ausgeschleustes Material handle (Kessel u. Beams 1963, Comings u. Okada 1972). Fawcett et al. (1970b) konnten jedoch kein RNA in den chromatoid bodies nachweisen. Deshalb schlugen sie eine Abstammung vom intermitochondrialen Zement vor. Nach den vorliegenden Untersuchungen erscheint dies nicht schlüssig, da der intermitochondriale Zement erst gegen Ende der Fetalperiode, nuage dagegen bereits im frühesten Stadium der Fetalphase in den Keimzellen auftritt. Fukuda et al. (1975) fanden elektronendichtes Material in den Poren der Kernmembran, das sie als Bestandteile der chromatoid bodies interpretierten. Dieses wird im Kern gebildet und ins Zytoplasma ausgeschleust. Obwohl in der vorliegenden Untersuchung hierfür keine Anhaltspunkte gefunden wurden, kann das Fehlen des chromatoid-Materials in den Kernmembranporen präparationsbedingt sein.

Das nur zeitweilige Auftreten von hellen und dunklen Keimzellvarianten, das lediglich aus einer unterschiedlichen Kern- und Zytoplasmadichte resultiert, kann nur als Ausdruck unterschiedlich aktiver Funktionsstadien gedeutet werden.

Die Einlagerung von Glykogen in späteren Entwicklungsstadien (ab 10,5 - 21,0 cm und ab 46,0 - 70,0 cm SSL) entspricht nicht den in der Literatur für andere Tierespezies angegebenen Befunden. Holstein et al. (1971) und Falin (1969) benutzen das Verschwinden des Glykogens ab der 13. Graviditätswoche beim Menschen als ein Kriterium für die Abgrenzung der fetalen Spermato gonien von den Gonozyten. Auch während der Hodendiffe-

renzierungsphase tritt lt. Holstein et al. (1971) in den frühen Gonozyten des Menschen Glykogen auf, dies trifft beim Rind ebenfalls nicht zu. Da Glykogenvorkommen als Energiespeicherform in einer Phase relativer Stoffwechselaktivität auftreten, bedeutet die Diskrepanz der Befunde lediglich, daß die aktive Phase der Keimzellen des Rindes etwas später stattfindet. Hierfür spricht auch die ausgeprägte Netzstruktur des Nukleolus, die z.Zt. der Glykogenvorkommen auffällt.

Während beim Menschen die Gonozyten als einzelne Zellen im Tubuluszentrum und die fetalen Spermatogonien in Paaren in der Tubulusperipherie auftreten (Gondos u. Hobel 1971), ist eine solche periphere Wanderung der Keimzellen des Rindes nicht klar festzustellen. Vielmehr treten bis zum Ende der Fetalzeit Keimzellen im Zentrum und in der Tubulusperipherie auf, wobei breitflächig der Basalmembran anliegende Keimzellen relativ selten vorkommen. Allerdings scheinen die meisten Keimzellen mit einem schmalen Zytoplasmaausläufer dennoch an die Basalmembran zu reichen, der jedoch im Schnitt nur selten getroffen wird.

Interzellulärbrücken konnten ab 7,0 cm SSL selten, häufiger ab 10,5 cm SSL beobachtet werden. In der späten Fetalphase wurden keine Interzellulärbrücken mehr gefunden. Angesichts der Tatsache, daß selbst zwischen Spermatiden noch Brücken gefunden wurden (Dym u. Fawcett 1971), liegt die Vermutung nahe, daß sie fetal nur in geringer Zahl vorhanden sind und im Schnitt nicht getroffen wurden. Interzellulärbrücken wurden jeweils zwischen Zellformen der Spermatogenese und Oogenese vieler Säugerspezies gefunden. Das erste Auftreten von Interzellulärbrücken zwischen Keimzellen wurde von Zamboni und Merchant (1973) und von Nagano und Suzuki (1978) gleich nach der Anlage der Tubuli seminiferi beobachtet.

Über die Funktion der Brücken, die nur zwischen Keimzellen auftreten, wurden verschiedene Vermutungen angestellt (Zamboni u. Gondos 1968, Gondos 1973, Amselgruber 1983). Auch über die Entstehungsweise sind die Autoren geteilter Meinung. Während Gondos (1973) eine unvollständige Zytokinese in der Telophase als Ursache der Brückenbildung beschreibt, diskutiert Amselgruber (1983) eine Kanalbildung nach amitotischer Zellteilung während des Zellmembranaufbaues.

Auch beim Rind handelt es sich eher um einen Kanal als um eine Zellbrücke, die von einer elektronendichten Membran begrenzt wird. Sein Inhalt besteht ausschließlich aus Zytoplasma und Ribosomen, was keinen Aufschluß über seine Funktion erlaubt.

Unklar bleibt ebenso die Funktion der nur kurzzeitig in der Phase von 5,6 - 9,5 cm SSL auftretenden Nexūs zwischen benachbarten Keimzellen, die in der Literatur bisher nicht beschrieben wurden. Lediglich Nagano und Suzuki (1978) fanden an Kontaktzonen zwischen Keimzellen verdichtete Membranen mit im Interzellularspalt gelegenen, flockigem Material, die jedoch den beim Rind beobachteten Nexūs nicht ähneln.

In der von Hilscher (1974) als "Prä spermatogenese-phase" bezeichneten Fetalzeit teilen sich die Keimzellen mitotisch und bilden einen Spermatogonienpool. Dies trifft auch für das Rind zu. Die mitotische Aktivität der Keimzellen des Rindes beginnt bald nach der Formierung der Keimstränge und läßt erst ab einer SSL von 23,5 cm (nach der 15. Graviditätswoche) wieder nach.

Ab einer SSL von ca. 5 - 6 cm wurden während der gesamten untersuchten Periode beim Rind nicht selten degenerierende Keimzellen beobachtet, die sich durch an die Kernmembran kondensiertes Chromatin bzw. pyknotische Kerne, vakuoläre Räume in Kern und Zytoplasma und gequollene Mitochondrien auszeichnen. Außerdem wurden immer wieder helle, gequollen erscheinende oder undeut-

lich konturierte Keimzellen beobachtet, die jedoch als präparationsbedingte Veränderungen zu werten sind (Rooßen-Runge u. Leik 1968). Das Schicksal des Keimzelldebris ist die Phagozytose durch die umliegenden Sertolizellen.

Da nicht nur zentral im Tubulus gelegene Keimzellen degenerieren, sondern auch in der Tubulusperipherie lokalisierte, erscheint die von Gondos und Conner (1973) beim Kaninchen vorgeschlagene Erklärung, die Wanderung in die Tubulusperipherie schütze die Keimzellen vor der Degeneration, für das Rind nicht schlüssig.

Die Frage nach der Bedeutung der Keimzelldegeneration muß weiterhin ungeklärt bleiben. Nach Gondos und Hobel (1971) wird das Zellmaterial der Keimzellen über Phagozytose der Sertolizellen an die sich stark vermehrenden Spermatogonien vermittelt. Fest steht, daß es sich um ein regelmäßig auftretendes Phänomen handelt, das keinesfalls als Zeichen einer abnormen Keimdrüsenentwicklung zu werten ist und das auch beim Weiblichen auftritt. Beim Menschen wird eine Degenerationsrate bis zu 75% mit einem Degenerationspeak in der 16. - 20. Schwangerschaftswoche angenommen (Gondos u. Hobel 1971).

Das Auftreten von Vorläuferzellen der fetalen Sertolizellen ist das erste morphologische Anzeichen der Bildung der männlichen Keimdrüse aus der indifferenten Gonadenanlage: Sie formieren die primitiven Keimstränge (Gondos 1977). In Übereinstimmung mit Rüsse (1983) wurden beim Rind die ersten Stränge am 40. Tag p.c. (ca. 2 cm SSL) beobachtet.

Die Herkunft der Sertolizellen ist seit langem umstritten. Während nach der klassischen Theorie eine Abstammung der Sertolizellen vom Keimdrüsenepithel angenommen wurde (Pelliniemi 1975), wiesen Zamboni und Upadhyay (1983) beim Schaf eine Einwanderung von Mesenchymzellen des "giant mesonephric nephron" der Urniere nach,

die sich zu Keimsträngen formieren. Wartenberg (1978, 1983) plädiert für eine geteilte Abstammung aus beiden Systemen. In der vorliegenden Untersuchung konnten selbst im frühesten Stadium der Gonade keine vom Oberflächenepithel in die Tiefe ziehenden Stränge gefunden werden. Dagegen tritt ein dichtes Zellgeflecht im Zentrum der Gonadenanlage auf, das sich kontinuierlich in das dorsale Mesenterium fortsetzt. Beide Vorgänge können dahingehend interpretiert werden, daß sich die Sertolizellen des Rindes aus eingewanderten Urnierenzellen differenzieren.

In der nachstehenden schematischen Darstellung werden die charakteristischen Merkmale der fetalen Sertolizellen des Rindes in den vier Entwicklungsabschnitten zusammenfassend dargestellt (Schema 2, a-d). Die wichtigsten Veränderungen der Sertolizellen in den vier Phasen sind folgende:

1. 2,0 - 5,5 cm SSL:

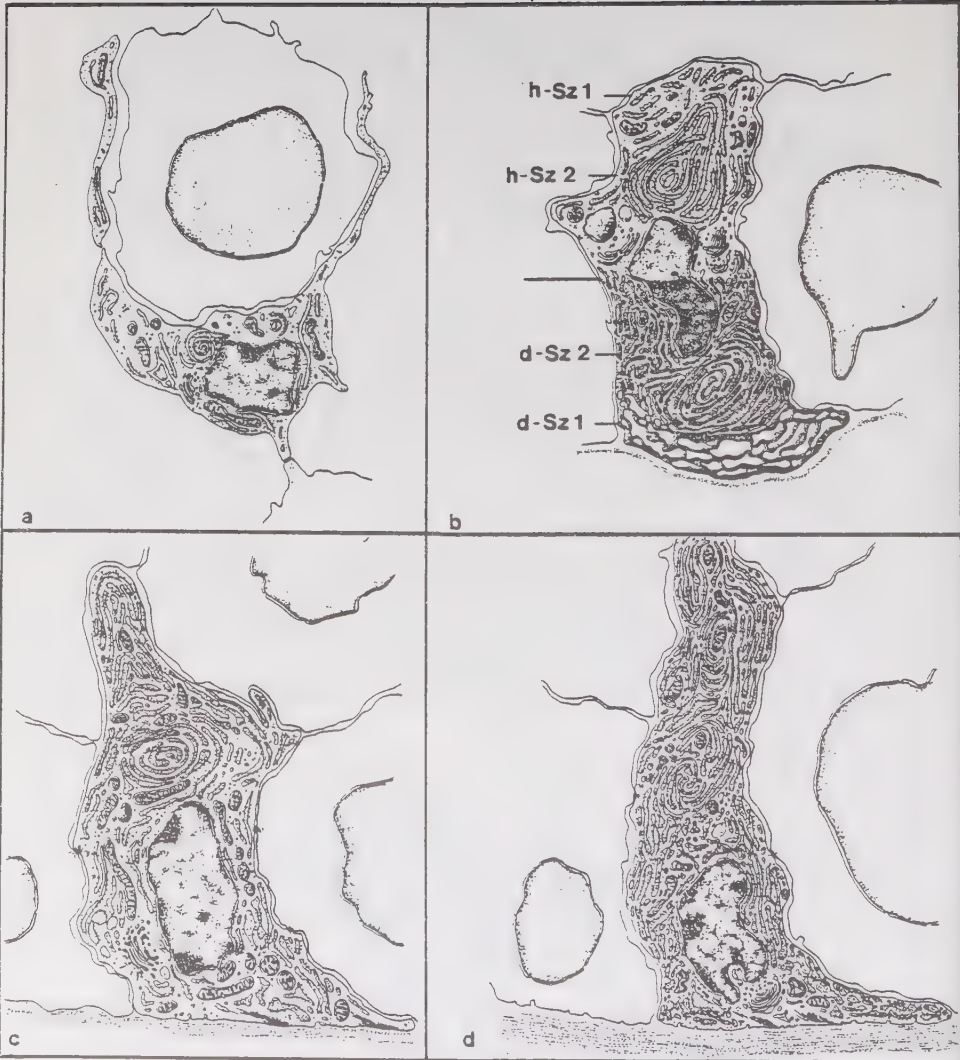
Bei der Zellaggregation zu Strängen erhalten die Sertolizellen eine polygonal-gedrungene Gestalt; es treten helle und dunkle Varianten auf; das ER besteht zunächst aus wenigen, kurzen rER-Zisternen, es vermehrt sich stark zu konzentrisch und parallel geschichteten Zisternen.

2. 5,6 - 9,5 cm SSL:

Neben den polygonalen treten einige hochprismatische Sertolizellen mit Zytoplasmaausläufern ins Tubuluszentrum auf; zu Keimzellen sind desmosomenähnliche Verbindungen ausgebildet; es treten jeweils zwei helle und zwei dunkle Sertolizellvarianten auf (h-Sz 1 u.2, d-Sz 1 u.2), die sich außer in der Dichte des Kernes und des Zytoplasmas in Menge, Anordnung und Inhalt ihres enorm entwickelten endoplasmatischen Reticulums unterscheiden.

3. 10,5 - 21,0 cm SSL:

Die meisten Sertolizellen besitzen hochprismatische



Schema 2: Strukturelle Differenzierung der fetalen Sertolizellen des Rindes

a: 2,0 - 5,5 cm SSL

b: 5,6 - 9,5 cm SSL

c: 10,5 - 21,0 cm SSL

d: 23,5 - 70,0 cm SSL

Form und basalständige Kerne; außer den desmosomenähnlichen Verbindungen zu Keimzellen treten ähnliche Bildungen und gap junctions zwischen Sertolizellen auf; das ER hat in der Ausdehnung etwas abgenommen; Phagolysosomen, die Keimzellmaterial enthalten, kommen nicht selten vor.

4. 23,5 - 70,0 cm SSL:

Bis zum Ende dieser Phase treten nur noch hochprismatische Sertolizellen auf; wiederum sind helle und dunkle Sertolizellvarianten vorhanden; das ER ist stark differenziert.

Die fetalen Sertolizellen des Rindes sind sehr zahlreiche unregelmäßig geformte Zellen mit polygonalen Kernen, die sich während der gesamten Fetalperiode teilen. Ihre mitotische Aktivität ist nur während der Blütephase des ER (5,6-9,5 cm und 46,0-70,0 cm SSL) etwas reduziert. Es ist allgemein anerkannt, daß sich die Sertolizellen nur im sexuell unreifen Hoden teilen; mit dem Eintritt der Keimzellen ins Pachytän jedoch sistiert ihre Vermehrung (Steinberger u. Steinberger 1971). Es scheint daher schlüssig, daß auch beim Rind fetal eine große Sertolizellpopulation angelegt wird. Die Proliferation der Sertolizellen steht unter dem Einfluß von FSH der fetalen Hypophyse (Bustos-Obrégon et al. 1975). Bei Rinderfeten wurde ab dem 60. Tag p.c. (6,6 cm SSL) eine FSH-Bindungskapazität nachgewiesen (Khalil u. Hauser 1979).

Das nur zeitweilige Auftreten von hellen und dunklen Sertolizellvarianten weist sie als verschiedene Funktionszustände aus. Die unterschiedlichen hellen und dunklen Sertolizellen des zweiten Entwicklungsabschnittes deuten auf eine starke Aktivität der Sertolizellen in dieser Phase hin. Das ER ist hoch differenziert und füllt das gesamte Zytoplasma der Sertolizelle aus. Die vier beschriebenen Funktionszustände stellen einen fortlaufenden Entwicklungs- und Produktionsablauf dar, der in den einzelnen Zellen zeitlich versetzt abläuft.

Zunächst sind relativ kurze rER-Zisternen vorhanden (h-Sz 1), die sich der Länge nach ausdehnen und zu Spiralen oder konzentrisch bzw. parallel geschichteten Zisternen entwickeln. Sie sind mit einer mäßig elektronendichten Substanz, ihrem Produkt, gefüllt (h-Sz 2). Je dichter gelagert die rER-Zisternen sind und je dichter ihr Inhalt ist, d.h. je mehr sie produzieren, desto dunkler erscheint die Gesamtzelle (d-Sz 2). Der zweite Typ der dunklen Sertolizellen (d-Sz 1) stellt das morphologische Äquivalent der Sertolizellen nach Abschluß ihres Produktionsmaximums dar: Der Kern ist heterochromatinreich, d.h. relativ inaktiv, die ER-Zisternen sind erweitert und enthalten nur wenig flockiges Material bzw. sind optisch leer, d.h. sie haben ihren Inhalt bereits entleert. Das Zytoplasma wird von den "perlschnurartig erweiterten" ER-Zisternen regelrecht komprimiert und erscheint deshalb dicht.

Welcher Natur ist jedoch das von den Sertolizellen synthetisierte Substrat und welchen Zweck erfüllt es? Wie bereits dargestellt, wird den Sertolizellen verschiedener Säugerspezies die Produktion der Müller-Gang-Hemmsubstanz zugeschrieben (Black u. Christensen 1969, Jost 1970, Bjerregaard et al. 1974, Merchant-Larios 1976). Inzwischen wurde im biologischen Experiment der Nachweis für die Existenz dieser Substanz im fetalen Rinderhoden erbracht (Josso et al. 1975, Donahoe et al. 1977). Die chemische Struktur konnte zwar bisher nicht identifiziert werden, doch scheint es sich um ein Protein oder Glykoprotein mit Makromolekülcharakter zu handeln (Swann et al. 1979).

Das morphologische Bild der fetalen Sertolizellen des Rinderhodens, in dessen Vordergrund das enorm entwickelte, ribosomale ER steht, impliziert eine heftige Proteinsynthese. Es ist dem Erscheinungsbild einer Zymogen produzierenden Pancreasazinuszelle (Palade et al. 1962) oder einer Antikörper produzierenden Plasma-

zelle (Fawcett 1977) vergleichbar.

Daß die Sertolizellen tatsächlich die Quelle des AMH's sind, konnte nicht bewiesen, sondern nur aus ihrer Struktur geschlossen werden. Allerdings wurde von Josso (1975) AMH-Aktivität im fetalen Tubulus seminiferus des Rindes nachgewiesen, so daß als Produzenten des AMH nur Tubuluszellen in Frage kommen. Die Keimzellen besitzen keine für Proteinsynthese typischen Organellen; dies stimmt mit Befunden von Josso (1974) überein, der beim Menschen auch im keimzellfreien Tubulus AMH-Aktivität nachwies.

Die Blütephase des ER ca. vom 58. bis zum 70. Tag p.c. (5,6 - 9,5 cm SSL) fällt außerdem in etwa mit der Rückbildung der Müller-Gänge zusammen, die, am 50. Tag p.c. im cranialen Tubenabschnitt beginnend, am 80. Tag p.c. mit dem Verschwinden der Vagina und der Uterushörner endet (Vigier et al. 1976). Leidl et al. (1982) datieren die Empfindlichkeit des Müller-Ganges für AMH beim Rind auf den 62. Tag p.c.. Das ER der Sertolizellen des Rindes bildet sich zwar nach dem 70. Tag p.c. etwas zurück, nimmt dann im letzten Entwicklungsstadium jedoch wieder zu. Lt. Donahoe et al. (1977) hält die AMH-Aktivität beim Rind über die Fetalperiode hinaus bis zur 6. Lebenswoche an, beim Schwein sind bis zum 60. Tag p.p. hohe AMH-Werte vorhanden (Tran et al. 1981). Welche Funktion das AMH in der späten Fetalphase und beim Jungtier besitzt, bleibt unklar. Tran et al. (1981) stellen lediglich eine zeitliche Korrelation zwischen AMH-Abfall und Reifegrad des Schweinehodens fest. Ebenso ungeklärt ist der Weg, den das AMH nimmt, falls es von den Sertolizellen produziert wird. Um an sein Erfolgsorgan, die Müller-Gänge, zu gelangen, muß es verschiedene Schranken passieren, so z.B. die Basalmembran des Tubulus seminiferus und das Kapillarendothel im Hodeninterstitium. Dies erscheint vor allem problematisch, handelt es sich beim AMH tatsächlich um ein Makromolekül.

Zellverbindungen zwischen Sertolizellen des fetalen Tubulus seminiferus des Rindes treten nur selten, in Form von desmosomenähnlichen Verbindungen, gelegentlich auch von gap junctions, auf. Nagano und Suzuki (1978) fanden im fetalen Mäusehoden ebenfalls gap junctions; anstatt der desmosomenähnlichen Verbindungen beschrieben sie jedoch occluding junctions (i.e. tight junctions). Fest steht, daß occluding junctions zwischen benachbarten Sertolizellen (bei der Ratte in geringerem Maße auch die peritubulären Myoidzellen) die prinzipiellen morphologischen Bestandteile der fälschlich als "Blut-Hoden-Schranke" bezeichneten, eigentlichen "Blut-Spermatogenesezell-Schranke" darstellen (Fawcett et al. 1970a, Dym 1973, Vitale et al. 1973, Gilula et al. 1976). Bei der Ratte bildet sich die Schranke um den 16. Tag p.p. (Vitale et al. 1973), beim Hund wurde die Entstehung der occluding junctions in der präpubertären Phase verfolgt (Connell 1976). Dies stimmt mit der Beobachtung überein, daß beim Rind die Blut-Spermatogenesezell-Schranke während der Fetalperiode noch nicht ausgebildet ist. Die Schranke dient der Trennung des basalen Tubuluskompartimentes (mit Spermatogonien und Spermatozyten) vom apikal gelegenen, für die Differenzierung der Spermatischen geeigneten Kompartimentes und wäre demzufolge fetal ohnehin überflüssig.

Zwischen Sertolizellen und Keimzellen des fetalen Kälberhodens wurden desmosomenähnliche Verbindungen beobachtet. Von Nagano und Suzuki (1978) wurden ähnliche Zellverbindungen im fetalen Mäusehoden und von Russel (1977) im adulten Rattenhoden beschrieben. Diese Zellverbindungen stellen vermutlich eine mechanische Adhaesion der Sertolizellen an die Keimzellen während der Histogenese dar.

Die Formänderung der fetalen Sertolizellen des Rindes von polygonal zu hochprismatisch stellt einen Differen-

zierungsvorgang dar. Nach dem Partus, wenn sich die Sertolizellen in einem inaktiven Stadium befinden (Sa-Typ nach Hadziselimović u. Seguchi 1974, Hadziselimović 1976), ist ihre Form wieder rundlich, um beim Eintritt in die Pubertät (Sb- u. Sc-Typ) wieder säulenförmig zu werden.

Obwohl die fetalen Sertolizellen des Rindes hoch differenziert sind, wurden dennoch keine, in den adulten Sertolizellen häufig vorkommenden, Lamellarkörper und Kristallstrukturen ("Charcot-Boettcher und Spangaro-Kristalle") beobachtet (Nagano 1966).

Auch die Basalmembran des Tubulus seminiferus unterliegt während des gesamten Untersuchungszeitraumes einer kontinuierlich verlaufenden Differenzierung.

Bei Rinderembryonen besteht die Basalmembran unmittelbar nach Anlage der Tubuli seminiferi aus einer dünnen Schicht ($0,1\text{ }\mu\text{m}$), die sich schon frühzeitig in Lamina rara, Lamina densa und Lamina rara gliedert. Außen sind ihr einige Kollagenfibrillen vom Typ III aufgelagert. Bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes wächst die Basalmembran des Tubulus seminiferus auf bis zu 10, sich jeweils in Lamina rara und Lamina densa aufgliedernde, Schichten an. Ihre Gesamtdicke beträgt letztlich ca. $1,2\text{ }\mu\text{m}$.

Diese Befunde werden hier erstmals erhoben. Bei keiner Säugetierspezies, deren fetale Hodenentwicklung untersucht wurde, ist eine Zunahme und Vielschichtigkeit der Basalmembran des Tubulus seminiferus schon während der Fetalzeit beschrieben.

Beim Menschen besteht die Basalmembran der Tubuli bis zum ersten Lebensjahr aus einer dünnen, elektronenhellen, dem Tubulus zugewandten Schicht und einer äußeren, elektronendichten Schicht, der unregelmäßig angeordnete Kollagenfibrillen aufgelagert sind. Bis zur Pubertät wächst die Basalmembran unter Gonadotropineinfluß (Had-

ziselimović 1977) auf eine ca. 800 Angström ($0,08 \mu\text{m}$) breite, ca. 10 Lamellen enthaltende Schicht an, die zahlreiche, sich ins Zytoplasma der angrenzenden Sertolizellen vorwölbende, "knob like formations" aufweist (Burgos 1960, Bawa 1963, Hadziselimović 1977).

Beim Rind ist die Basalmembran dagegen bereits am Ende des 8. Graviditätsmonats $1,2 \mu\text{m}$ breit und besteht ebenfalls aus 10, jedoch viel dickeren, Lamellen.

Handelt es sich bei den vorliegenden Ergebnissen evtl. um pathologische Veränderungen?

Die Basalmembran des Tubulus seminiferus pränatal bestrahlter Rattenhoden stellt sich ab dem 35. Tag p.p. teilweise verdickt und mehrschichtig, an anderen Stellen von der Tubuluswand abgelöst und eingefaltet dar (Hatier et al. 1982). Verdickungen und Unregelmäßigkeiten der Basalmembran wurden bei Hypogonadismus beobachtet (Nistal u. Paniagua 1979); bei Keimzell-Aplasie ist die Basalmembran mehrschichtig und weist Projektionen ins Sertolizellzytoplasma auf (Takayama 1973, Abreu u. David-Ferreira 1982). Im kryptorchiden Hoden des Menschen setzt zwar ab dem 3. Lebensjahr eine Kollagenisierung und Hyalinisierung der Tunica propria ein, doch bis zur Pubertät ist die Basalmembran selbst nicht verändert. Dann jedoch setzt keine Schichtung und nur eine verminderte Bildung von "knobs" ein (Hadziselimović 1977).

Die untersuchten Rinderhoden wurden weder von kryptorchiden noch hypogonadalen oder bestrahlten Tieren gewonnen. Außer dieser Tatsache spricht die lineare Zunahme der Basalmembrandicke, die sich beim Zusammenstellen der Werte aller untersuchter Hoden ergab, gegen das Vorliegen einer pathologischen Veränderung.

Es muß daher angenommen werden, daß es sich um einen physiologischen Befund handelt. Welche Funktion diese enorme Zunahme der Basalmembran des Tubulus seminife-

rus beim Rinderfetus besitzt, bedarf einer Klärung. Nach dem morphologischen Erscheinungsbild könnte man auf eine Diffusionsschranke schließen. Allerdings stellt sich dann die Frage, welchen Stoff sie am Übertritt hindern sollte. Der Testosteronspiegel fällt im Rinderfetus ab dem 7. Graviditätsmonat ohnehin steil ab (Shemesh et al. 1978), daher scheint Testosteron hierfür nicht in Frage zu kommen.

Die Struktur der fetalen Leydigzellen des Rindes ist bisher nicht beschrieben. Dagegen liegt für andere Säugerspezies eine Fülle von Angaben vor, die sich jedoch nicht immer mit den beim Rind gemachten Beobachtungen decken.

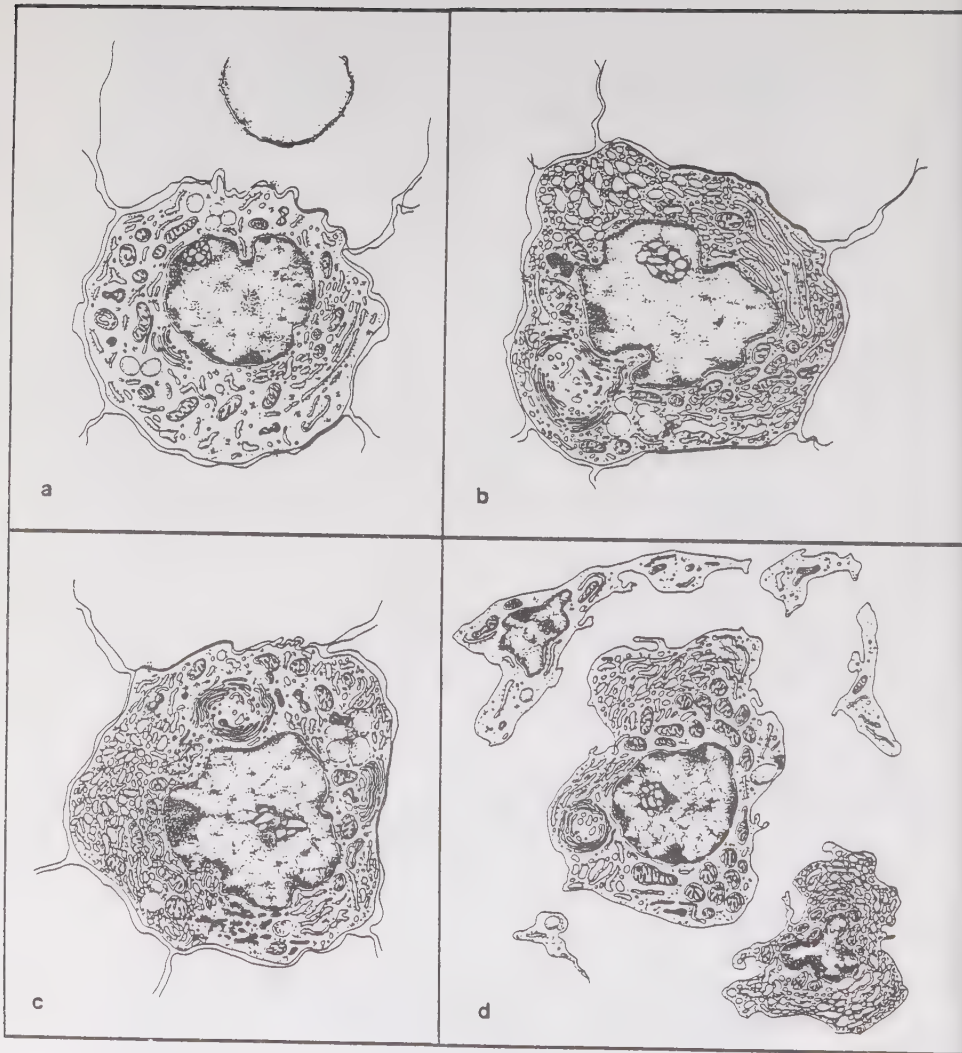
Entsprechend den Schemazeichnungen für die Differenzierung der Keimzellen und Sertolizellen ist die Leydigzellentwicklung in der nachstehenden Zeichnung (Schema 3, a-d) stilisiert dargestellt. In den vier untersuchten Entwicklungsstadien sind folgende Veränderungen besonders hervorzuheben:

1. 2,0 - 5,5 cm SSL:

Bei Embryonen mit 2,0 - 3,0 cm SSL sind gelegentlich etwas größere, abgerundete Mesenchymzellen vorhanden; ab einer SSL von 3,0 cm treten Inseln ("cluster") von differenzierten Leydigzellen auf; es sind helle und dunkle Varianten zu beobachten; das ER ist in Form zahlloser ribosomaler Vesikel und Tubuli vertreten; Lipoeideinschlüsse unterschiedlicher Größe sind relativ häufig.

2. 5,6 - 9,5 cm SSL:

Die Leydigzellen haben sich deutlich vermehrt und vergrößert; es sind hellere Leydigzellen mit erweiterten, oligogranulären bis agranulären Tubuli und dunklere mit flachen, oligogranulären ER-Zisternen oder sehr kleinen Vesikeln vorhanden; Lipoidtropfen sind häufig.



Schema 3: Strukturelle Differenzierung der fetalen Leydigzellen des Rindes

a: 2,0 - 5,5 cm SSL

b: 5,6 - 9,5 cm SSL

c: 10,5 - 21,0 cm SSL

d: 23,5 - 70,0 cm SSL

3. 10,5 - 21,0 cm SSL:

Ab einer SSL von 11 - 12 cm besitzen die Leydigzellen ihr Maximum, danach treten wieder mehr Mesenchymzellen auf; die hellen und dunklen Leydigzellvarianten sind verschwunden; das ER besteht hauptsächlich aus agranulären, erweiterten Vesikeln.

4. 23,5 - 70,0 cm SSL:

Die Leydigzellen bilden sich zurück; es treten unterschiedliche Rückbildungsstadien nebeneinander auf; das ER, die Lipide und der Golgi-Komplex nehmen ab; gelegentlich treten degenerierte Leydigzellen auf.

Die fetalen Leydigzellen des Rindes sind große, polygonale Zellen mit auffälligen Netznukleolen und einem von ER-Zisternen ausgefüllten Zytoplasma, d.h. es handelt sich um hochaktive Zellen.

Dies stimmt mit der Auffassung überein, daß die fetalen Leydigzellen des Rindes die Produzenten der fetalen Androgene sind (Karg 1967). Von einer ganzen Reihe von Untersuchern wurde im fetalen Rinderhoden der Androgen- bzw. Testosteronspiegel ermittelt (Karg u. Struck 1966, Karg 1967, Kim et al. 1972, Challis et al. 1974, Kiser et al. 1975, Mongkonpunya et al. 1975, Shemesh et al. 1978).

Die ersten meßbaren Testosteronwerte treten ab einer SSL von 3,3 cm (ca. 42. Tag p.c.) auf, um den 45. Tag ($\pm$ 3 Tage) ist der Testosteronspiegel bereits relativ hoch; bis zum 7. Graviditätsmonat bleibt er mit kleineren Schwankungen in diesem Bereich, um dann bis zur Geburt hin steil abzufallen (Kim et al. 1972, Shemesh 1978). Die Differenzierung der Derivate des Wolff-Ganges wird von Vigier et al. (1976) für die Entwicklungsphase von 3,2 cm SSL bis 17,0 cm SSL angegeben.

Diese Angaben stimmen mit den vorliegenden morphologischen Befunden überein: Die Leydigzellen des Rindes treten ab einer SSL von 3,0 cm in großer Menge auf,

nehmen weiter zu, besitzen bei ca. 11 - 12 cm SSL ihr Maximum (z.Zt. der Differenzierung der Samenblasendrüsen und des Epididymis, Vigier et al. 1976) und bilden sich in der letzten Phase der Gravidität stark zurück.

Das agranuläre ER, anerkanntermaßen typisch für Steroidsynthese (Christensen u. Gillim 1969, Christensen 1975), tritt beim Rind, im Gegensatz zu den fetalen Leydigzellen des Schweines (van Vorstenbosch et al. 1982), nicht von Anfang an in den Vordergrund. Obwohl auch bei der Maus (Russo u. de Rosas 1971) und beim Kaninchen (Bjerrgaard et al. 1974) in der frühen Fetalphase vermehrt ribosomales ER auftritt, bleibt es dennoch ungeklärt, weshalb beim Rind das aER erst ab der Mitte der zweiten Entwicklungsperiode dominiert.

Der hohe Gehalt des Zytoplasmas an freien Ribosomen, der ebenfalls anfangs vorliegt und mit Zunahme des aER abnimmt, stimmt dagegen mit den Beobachtungen anderer Autoren überein (Niemi et al. 1967, Pelliniemi u. Niemi 1969, Black u. Christensen 1969). Ein hoher Ribosomengehalt ist typisch für embryonales Gewebe; die Abnahme der Ribosomen und Zunahme des aER stellt einen Differenzierungsprozeß dar.

Die Lipoeideinschlüsse im Zytoplasma der fetalen Leydigzellen des Rindes sind auffällig. Erst in den in Rückbildung begriffenen Leydigzellen treten sie nicht mehr auf. Da diese Einschlüsse nur in hochdifferenzierten Leydigzellen vorkommen, stellen sie vermutlich die Speicherform ihres Produktes, des Testosterons, dar. Im Gegensatz dazu stehen die Befunde von Russo und de Rosas (1971). Sie fanden Lipideinschlüsse vor allem in bereits involvierten Leydigzellen der Maus kurz vor dem Partus und deuteten sie als ein Zeichen von Regression. Holstein et al. (1971) vermuteten ein Zusammenfließen von Membranstrukturen des ER, da sie häufig konzentrische Schichtungen aus Membranen um die

Lipidtropfen beobachteten. Auch in der vorliegenden Untersuchung wurden diese als Myelinkörper bezeichnete Gebilde häufig in der nächsten Umgebung von Lipoid einschläüssen gefunden. Da die ER-Vesikel das Steroid produzieren, könnten sie sich bei der Abgabe ihres Produktes aneinanderlegen, um dann als lamellenartig geschichtete Myelinkörper zu erscheinen.

Neben dem Auftreten von aER ist das Vorkommen von tubulären Mitochondrien typisch für Steroidsynthese einer Zelle. Beim Menschen wurden in der differenzierten Leydigzelle stets tubuläre Mitochondrien beschrieben (Pelliniemi und Niemi 1969, Holstein et al. 1971), ebenso bei der Ratte (Lording und de Kretser 1972, Merchant-Larios 1976), dem Hamster (Gondos et al. 1974) und dem Kaninchen (Gondos und Conner 1973).

Beim Rind dagegen treten in allen Stufen der Entwicklung deutliche Crista-Innenstrukturen in den Mitochondrien auf, die bei den länglichen Mitochondrien quer zur Längsachse angeordnet sind. Auch bei der Maus (Russo und de Rosas 1971) und beim Meerschweinchen (Black und Christensen 1969) treten in den hochdifferenzierten Leydigzellen Mitochondrien vom Crista-Typ auf, während die fetalen Leydigzellen des Schweines, neben den häufigeren tubulären Mitochondrien, längliche Mitochondrien mit längs verlaufenden Cristae enthalten (van Vorstenbosch et al. 1982). Da beim Rinderfetus die Androgenproduktion erwiesen ist (s.oben), scheinen tubuläre Mitochondrien für die Steroidsynthese entbehrlich zu sein.

Auffällig sind die beim Rind häufig und über längere Abschnitte ausgebildeten gap junctions zwischen benachbarten Leydigzellen eines "clusters". Auch desmosomenähnliche Verbindungen und ein fingerförmiges Ineinandergreifen der benachbarten Zellmembranen konnten während des gesamten Untersuchungszeitraumes in großer Zahl beobachtet werden. Diese verschiedenartigen Zell-

kontakte treten in der gleichen Form auch zwischen den fetalen Leydigzellen des Schweines auf (van Vorstenbosch et al. 1982). Beim Meerschweinchen wurden Desmosomen und tight junctions beschrieben, die jedoch in der Bedeutung von gap junctions interpretiert sind (Black u. Christensen 1969).

Welchem speziellen Zweck die gap junctions zwischen den fetalen Leydigzellen dienen, muß ungeklärt bleiben. Allgemein stellen sie einen Zellkontakt dar, der den Übertritt von ionisierten Stoffen von einer Zelle zur anderen erleichtert.

Die Leydigzellen des Rindes stammen, wie auch die Leydigzellen anderer Säugerspezies, vom mesenchymalen Gonadenblastem ab. Nach dem Erreichen ihrer maximalen Ausdehnung treten wieder vermehrt Mesenchymzellen auf. In der Regressionsphase der Leydigzellen des Rindes ist deutlich eine stufenweise Involution zur undifferenzierten, pluripotenten Mesenchymzelle zu erkennen (Abnahme des ER, des Golgi-Apparates und der Lipide). Bestätigt wird dies ferner durch die Tatsache, daß degenerierte Leydigzellen in der vorliegenden Untersuchung nur selten beobachtet wurden. Die in der letzten Phase vorhandenen lysierten Leydigzellen, die ebenfalls nur gelegentlich auftreten, werden vermutlich von den umliegenden Mesenchymzellen phagozytiert.

Auch beim Kaninchen wurde eine Involutionsphase der Leydigzellen beobachtet, allerdings erst eine Woche post partum (Gondos et al. 1976). Beim Menschen dagegen ist anstatt einer Rückbildung zu Mesenchymzellen das häufige Auftreten degenerativ veränderter Leydigzellen beschrieben (Pelliniemi u. Niemi 1969, Holstein et al. 1971).

Das zeitweilige Vorkommen von hellen und dunklen Leydigzellvarianten spricht wiederum für verschiedene Funktionszustände.

Im Gegensatz zur adulten Leydigzelle des Menschen

(Fawcett 1977) wurden in den fetalen Leydigzellen des Rindes keine Reinke'schen Kristalle gefunden. Dies stimmt mit den Befunden anderer Säugerspezies überein.

6. Zusammenfassung

Es wurden 51 Hoden fetaler Rinder unterschiedlicher Scheitel-Steiß-Längen (SSL 2,0 - 70,0 cm) licht- und elektronenmikroskopisch untersucht.

Die Hodendifferenzierung beginnt beim Rind ab einer SSL von ca. 2,0 cm (39. Tag p.c.) mit der Bildung der Tunica albuginea und der primitiven Keimstränge, welche sich zu den Tubuli seminiferi entwickeln. Während des gesamten Untersuchungszeitraumes stellen sich die Tubuli seminiferi als ein System anastomosierender Stränge dar, die noch kein Lumen aufweisen.

Bereits im Stadium der indifferenten Gonadenanlage finden sich in enger Nachbarschaft einiger Mesenchymzellen erste Fragmente einer Basalmembran, die den neugebildeten Tubulus spätestens bis zu einer SSL von 5,5 cm als kontinuierliche Begrenzung umgeben. Während der untersuchten Periode wächst die Basalmembran des Tubulus seminiferus auf eine bis zu 10 Lamellen umfassende, ca. 1,2 μm dicke Schicht an.

Die fetale Entwicklung der Keimzellen wurde in vier chronologische Stadien unterteilt, da die für andere Spezies getroffenen Definitionen "Gonozyt" und "fetale Spermatogonie" für das Rind nicht zutreffen. Bei den fetalen Keimzellen des Rindes handelt es sich um große, rund-ovale Zellen mit runden Kernen, deren Hauptaktivität in mitotischen Teilungen besteht. Ein kleiner Teil der Keimzellen degeneriert. Das zeitweilige Auftreten von hellen und dunklen Keimzellen deutet auf verschiedene Funktionsstadien hin. Interzellularbrücken kommen nur in geringer Zahl zwischen fetalen Keimzellen vor. "Nuage", ein charakteristischer Keimzellbestandteil, tritt im Kern und Zytoplasma auf. In der Phase von 10,5 - 21,0 cm SSL besitzen die Keimzellen große Mengen Glykogengranula, die kurzzeitig ganz verschwinden und bis zu einer SSL von 46,0 cm in geringerem Ausmaß wieder auftreten.

Die fetalen Sertolizellen differenzieren sich aus Zellen des Gonadenmesenchymes. Sie sind zunächst nur aufgrund ihrer Lokalisation zu den Keimzellen als Präsertolizellen zu definieren. Während des gesamten Fetallebens teilen sie sich mitotisch und stellen den Hauptteil der Tubuluszellen dar. Die Form der Sertolizellen und ihrer Kerne ist polygonal, gegen Ende der Fetaldifferenzierung werden sie hochprismatisch und schließen basalständige Kerne ein. Aus wenigen kurzen rER-Zisternen entwickeln sich dicht gelagerte, konzentrisch oder spiralg angeordnete rER-Stapel, deren Inhalt kontinuierlich zunimmt. Nach Erreichen eines maximalen Füllungszustandes entleeren sie sich und stellen sich als perlschnurartig erweiterte Tubuli dar. Die Blütephase des ER (ca. 5,6 - 9,5 cm SSL) stimmt mit der Rückbildung des Müller-Ganges zeitlich überein.

Die fetalen Leydigzellen des Rindes sind erstmals ab 3,0 cm SSL zu erkennen. Sie differenzieren sich aus intertubulär gelegenen Mesenchymzellen. Es handelt sich um große, polygonale Zellen mit auffälligen Netznukleolen und einem von ER-Zisternen ausgefüllten Zytoplasma. Charakteristisch sind die zahlreichen, kleinen ER-Vesikel und Tubuli, die zunächst vornehmlich ribosomal, dann jedoch zunehmend agranulär sind. Daneben treten in wechselnder Größe und Anordnung Lipoideinschlüsse auf. Die fetalen Leydigzellen des Rindes enthalten Mitochondrien vom Crista-Typ. Häufig sind ausgedehnte gap junctions zwischen den Leydigzellen ausgebildet, deren spezielle Funktion jedoch nicht geklärt werden konnte. Die fetalen Leydigzellen treten hauptsächlich in clustern zusammengelagert auf. Ihr Maximum an Ausdehnung besitzen sie mit ca. 11 - 12 cm SSL und involvieren während der letzten Phase der Gravidität zu undifferenzierten Mesenchymzellen. Degenerierende Leydigzellen wurden nur relativ selten beobachtet.

7. Summary

Light and electron microscopy for fetal differentiation of the male gonads in cattle

The testes of 51 bovine fetuses with differing crown-rump-lengths (CRL 2.0 - 70.0 cm) were examined with the light and electron microscope.

Bovine testis differentiation begins as of a CRL of 2.0 cm (day 39 p.c.) with the development of the tunica albuginea and the primitive sex cords. From the latter the tubuli seminiferi later develop. Throughout the entire investigation the tubuli seminiferi consisted of a system of anastomosing cords lacking a lumen.

Basal membrane fragments are already found in the stage of indifferentiated gonads in close proximity to mesenchymal cells. These form a continuous layer around the newly developed tubulus at the latest with a CRL of 5.5 cm. The basal membrane of the seminiferous tubulus grows to a thickness of approximately 1.2 μ m, comprising up to 10 lamellae during the investigation period.

The fetal development of the germ cells is divided chronologically into four stages. The terms "gonocyte" and "fetal spermatogonia" used with other species, are not correct in cattle. Bovine fetal germ cells are large round-oval cells containing round nuclei with mitosis it's primary activity. A small portion of germ cells degenerate. The appearance at times of lighter and darker germ cells suggests various functional stages. Intercellular bridges between fetal germ cells are only occasionally observed. A characteristic component of the germ cell, the "nuage", is found in the nucleus and cytoplasm. The germ cells contain large amounts of glycogen granules when the CRL is 10.5 - 21.0 cm. These disappear for a short period and reappear in lesser amounts at the latest with a CRL of 46.0 cm.

Fetal Sertoli cells are differentiated gonadal mesenchymal cells. To begin with the Sertoli cells can only be defined as Pre-Sertoli cells based on their location to the germ cells. They undergo mitotic division throughout the entire fetal life and represent the majority of tubulus cells. The Sertoli cell and its nucleus has a polygonal shape. They develop a columnar form toward the end of fetal differentiation enclosing basic nuclei. A few short rER-cisternae develop into densely packed concentric or spiral accumulated piles, whose contents increase continuously. After reaching maximum capacity they release their contents and present themselves as perl-chain-like tubuli. The "prime" ER-phase (approx. 5.6 - 9.5 cm CRL) corresponds with the involution of the Mullerian duct.

Fetal bovine Leydig cells are first recognized with a CRL of 3.0 cm. They represent a differentiation of intertubular mesenchymal cells. Large polygonal cells are involved with distinct filamentous nucleoli and their cytoplasm is filled with ER-cisternae. Numerous small ER-vesicles and tubuli that are initially ribosomal later becoming increasingly agranular are characteristic. In addition, lipid droplets are found in various sizes and arrangements. Fetal bovine Leydig cells contain crista-type mitochondria. Distended gap junctions are frequently found between the Leydig cells, but their specific function is not clear. Fetal Leydig cells occur primarily in clusters. They have their maximum with approximately 11 -12 cm CRL and involve during the final phase of pregnancy to undifferentiated mesenchymal cells. Degenerated Leydig cells were rarely seen.

LITERATURVERZEICHNIS

- ABDEL-RAOUF, M. (1960): The postnatal development of the reproductive organs in bulls with special reference to puberty. *Acta Endocrinol. Suppl.* 49(IL).
- ABREU, J., DAVID-FERREIRA, I.F. (1982): Fine structure of seminiferous tubules from prenatally irradiated rats. *Cell Tissue Res.* 222, 143-152.
- AMSELGRUBER, W. (1983a): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Oogenese der Katze (*Felis catus*). *Zbl.Vet. Med. C. Anat. Histol. Embryol.* 12, 167-188.
- AMSELGRUBER, W. (1983b): In Vorbereitung.
- AGUAS, A.P. (1983): Morphological heterogeneity of the smooth endoplasmatic reticulum in the Leydig cells of the boar testis. *Cell Tissue Res.* 288, 677-683.
- ATTAL, J., COUROT, M. (1963): Développement testiculaire et établissement de la spermatogenèse chez le Tau-reau. *Ann. Biol. anim. Biochem. Biophys.* 3, 219-241.
- BAWA, S.R. (1963): Fine structure of the Sertoli cell of human testis. *J. Ultrastruct. Res.* 9, 459-474.
- BJERREGAARD, P., BRO-RASMUSSEN, F., REUMERT, T. (1974): Ultrastructural development of fetal rabbit testis. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 147, 401-413.
- BLACK, V. (1971): Gonocytes in fetal guinea pig testes: Phagocytosis of degenerating gonocytes by Sertoli cells. *Am. J. Anat.* 131, 415-426.
- BLACK, V.H. and CHRISTENSEN, A.K. (1969): Differentiation of interstitial cells and Sertoli cells in guinea pig testes. *Am. J. Anat.* 124, 211-237.
- BURGOS, M.H. (1960): Fine structure of basement membran of the human seminiferous tubulus. *Anat. Rec.* 136, 312.
- BUSTOS-OBREGON, E., COUROT, M., FLECHON, J.E., HOCHEREAU-DE-REVIERS and HOLSTEIN, A.F. (1975): Morphological Appraisal of Gametogenesis, Spermatogenetic Process in Mammals with Particular Reference to Man. *Andrologia* 7 (2), 141-163.
- BYSKOV, A.G. (1978): Regulation of initiation of meiosis in fetal gonads. *Int. J. Andr.(Suppl.)* 2, 29-38.
- CATT, K.J., DUFAU, M.L., NEAVES, W.B., Walsh, P.C. and WILSON, J.d. (1975): LH-hCG receptors and testosterone content during differentiation of the testis in the rabbit embryo. *Endocrinology* 97, 1157-1165.

- CHALLIS, J.R.G., KIM, C.K., NAFTOLIN, F., JUDD, H.L., YEN, S.S.C. and BENIRSCHKE, K. (1974): The concentrations of androgens, oestrogens, progesterone and luteinizing hormone in the serum of foetal calves throughout gestation. *J. Endocrinol.* 60, 101-115.
- CHRISTENSEN, A.K. (1975): Leydig cells. In: *Handbook of Physiology; Section 7: Endocrinology; Vol.5, Male Reproductive System.* R.O. Greep, ed. William and Wilkins, Baltimore, 57-94.
- CHRISTENSEN, A.K. and GILLIM, S.W. (1969): The correlations of the fine structure and function in steroid secreting cells, with emphasis on those of the gonads. In: *The Gonads.* K.W. McKerns, ed. North-Holland Publishing Co., Amsterdam, 415-490.
- CICCARESE, S. and OHNO, S. (1978): Two plasma membrane antigens of testicular Sertoli cells and H-2-restricted versus unrestricted lysis by female T cells. *Cell* 13, 643-650.
- COMINGS, D.E. and OKADA, T.A. (1972): The chromatoid body in mouse spermatogenesis, evidence that it may be performed by extrusion of nuclear components. *J. Ultrastruct. Res.* 39, 15-23.
- CONNEL, C.J. (1976): A freeze fracture and lanthanum tracer study of the development of the junctions between Sertoli cells of the prepuberal dog. *J. Cell Biol.* 70, 80a (Abstr.).
- DIERICH, R. and WROBEL, K.-H. (1973): Licht-und elektronenmikroskopische Untersuchungen an den peritubulären Zellen des Schweinehodens während der postnatalen Entwicklung. *Z. Anat. Entwicklungsgesch.* 143, 49-64.
- DÖCKE, F. (1981): Keimdrüsen. In: *Veterinärmedizinische Endocrinologie.* Kap. 15; Döcke, F., ed., VEB Gustav Fischer Verlag, Jena, 417-419.
- DONAHOE, P.K., ITO, Y., PRICE, I.M., HENDREN, W.H. (1977): Mullerian Inhibiting Substance activity in bovine fetal, newborn and prepuberal testes. *Biol. Reprod.* 16/2, 238-243.
- DYM, M. (1973): The fine structure of monkey (Macaca) Sertoli cell and its role in maintaining the blood-testis barrier. *Anat. Rec.* 175, 639-656.
- DYM, M. and FAWCETT, D.W. (1971): Further observations on the numbers of spermatogonia, spermatocytes, spermatids connected by intercellular bridges in the mammalian testis. *Biol. Reprod.* 4, 195-215.
- EDDY, E.M. (1974): Fine structural observations on the form and distribution of nuage in germ cells of the rat. *Anat. Rec.* 178, 731-758.

- ENGEL, W., PFÄFFLIN, F., WIEDEKING, C., EPPLEN, J.T. (1980): H-Y Antigen, Gonadendetermination, Geschlechtsdifferenzierung. In: Sonderdruck Sexualmedizin 9, Verlag Medical Tribune GmbH, Wiesbaden; 448-452, 494-498.
- EVANS, H.E., SACK, W.O. (1973): Pränatal development of domestic and laboratory mammals: growth curves, external features and selected references. *Anat., Histol., Embryol.* 2, 11-45.
- FALIN, L.I. (1969): The development of genital glands and the origin of germ cells in human embryogenesis. *Acta anat.* 72, 195-232.
- FAWCETT, D.W. (1977): Atlas zur Elektronenmikroskopie der Zelle. Urban und Schwarzenberg Verlag, München, Berlin, Wien, 330-331.
- FAWCETT, D.W., EDDY, E.M., PHILLIPS, D.M. (1970 b): Observation on the fine structure and relationships of the chromatoid body in mammalian spermatogenesis. *Biol. Reprod.* 2, 129-153.
- FAWCETT, D.W., LEAK, L.V., HEDIGER, P.M. (1970 a): Electron microscopic observations on the structural components of the blood-testis-barrier. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 10, 105-122.
- FELDMAN, S.C. and BLOCH, E. (1978): Developmental pattern of testosterone synthesis by fetal rat testes in response to luteinizing hormone. *Endocrinology* 102, 999-1007.
- FLICKINGER, C.J. (1967): The postnatal development of the Sertoli cells of the mouse. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 78, 92-113.
- FRANCHI, L.L. and MANDL, A.M. (1964): The ultrastructure of germ cells in foetal and neonatal male rats. *J. Embry. Exp. Morph.* 12, 289-308.
- FRITZ, I.B., KOPEC, B., LAM, K. and VERNON, R.G. (1974): Effects of FSH on levels of androgen binding protein in the testis. In: Hormone Binding and Target cell Activation in the Testis. M.L. Dufau and A.R. Means, eds.; Plenum, New York, 311-327.
- FUKUDA, T., HEDIGER, C., GROSCURTH, P. (1975): Ultrastructure of developing germ cells in the fetal human testis. *Cell Tiss. Res.* 161, 55-70.
- GIER, H.T. and MARION, G.B. (1970): Development of the mammalian testis. In: The Testis. Eds. Johnson, A.D., Gomes, W.R. and Vandemark, N.L.; Vol. I, Ch I, Accad. Press, New York.
- GILULA, N.B., FAWCETT, D.W. and AOKI, A. (1976): The Sertoli cell occluding junctions and gap junctions in mature and developing mammalian testis. *Dev. Biol.* 50, 142-168.

- GONDOS, B. (1973): Intercellular bridges and mammalian germ cell differentiation. *Differentiation* 1, 177-182.
- GONDOS, B. (1974): Differentiation and growth of cells in the gonads. In: *Differentiation and Growth of Cells in Vertebrate Tissues*. G. Goldspink, ed.; Chapman & Hall, London; 169-208.
- GONDOS, B. (1977): Testicular Development. In: *The Testis*. Johnson and Gomes, eds., Vol.IV, 1-36.
- GONDOS, B. (1980): Development and differentiation of the testis and male reproductive tract. In: *Testicular Development, Structure and Function*. A. and E. Steinberger, eds.; Raven Press, New York; 3-19.
- GONDOS, B. and CONNER, L.A. (1973): Ultrastructure of developing germ cells in the fetal rabbit testis. *Am. J. Anat.* 136, 23-42.
- GONDOS, B. and HOBEL, C.J. (1971): Ultrastructure of germ cell development in the human fetal testis. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 119, 1-20.
- GONDOS, B. PAUP, D.C., ROSS, J., GORSKI, R.A. (1974): Ultrastructural differentiation of Leydig cells in the fetal and postnatal hamster testis. *Anat. Rec.* 178, 551-566.
- GONDOS, B., RENSTON, R.H. and GOLDSTEIN, D.A. (1976): Postnatal differentiation of Leydig cells in the rabbit testis. *Am. J. Anat.* 145, 167-181.
- GONZALEZ-ANGULO, A., HERNANDEZ-JAUREGUI, P. and MARQUEZ-MONTER, H. (1971): Fine structure of gonads of the fetus of the horse (*Equus caballus*). *Am. J. Vet. Res.* 32, 1665-1676.
- HADZISELIMOVIC, F. (1976): Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Entwicklung des Tubulus seminiferus unmittelbar nach der Geburt bis zum vollendeten ersten Lebensjahr. *Acta anat.* 95, 287-299.
- HADZISELIMOVIC, F. (1977): Cryptorchidism. Ultrastructure of normal and cryptorchid testis development. *Adv. Anat. Embryol. and Cell Biol.* 53, Fasc.3, 1-72.
- HADZISELIMOVIC, F. and SEGUCHI, H. (1974): Ultramikroskopische Untersuchungen am Tubulus seminiferus bei Kindern von der Geburt bis zur Pubertät, II: Entwicklung und Morphologie der Sertolizellen. *Verh. Anat. Ges.* 68, 149-161.
- HATIER, R., GRIGNON, G., TOUATI, F. (1982): Ultrastructural Study of Seminiferous Tubules in the Rat after Prenatal Irradiation. *Anat. Embryol.* 165, 425-435.

- HEDINGER, C. und WEBER, E. (1973): Zur Struktur des Tubulus-systems im menschlichen Hoden. Z. Anat. Entw. Gesch. 139, 217-226.
- HILSCHER, W. (1974): Kinetik der Prä spermatogenese und Spermatogenese. Verh. Anat. Ges. 68, 39-62.
- HILSCHER, W. und HILSCHER, B. (1976): Kinetics of male Gametogenesis. Andrologia 8 (2), 105-116.
- HILSCHER, W. und MAKOSKI, H.B. (1968): Histologische und autoradiographische Untersuchungen zur "Prä spermatogenese" und "Spermatogenese" der Ratte. Z. Zellforsch. 86, 327-350.
- HOLSTEIN, A.F., WARTENBERG, H. and VOSSMEYER, J. (1971): Zur Cytologie der pränatalen Gonadenentwicklung beim Menschen. III. Die Entwicklung der Leydigzellen im Hoden von Embryonen und Feten. Z. Anat. Entwicklungs-gesch. 135, 43-66.
- HUCKINS, C. and CLERMONT, Y. (1968): Evolution of gonocytes in the rat testis during late embryonic and early post-natal life. Arch. Anat. Hist. Embry. 51, 343-354.
- JIRASEK, J.E. (1971): Development of the Genital System and Male Pseudohermaphroditism. Johns Hopkins Press, Baltimore.
- JOSSO, N. (1974): Müllerian-inhibiting activity of human fetal testicular tissue deprived of germ cells by in vitro irradiation. Pediat. Res. 8, 755-758.
- JOSSO, N., FOREST, M.G. and PICARD, J.-Y. (1975): Müllerian-inhibiting activity of calf fetal testes: Relationship to testosterone and protein synthesis. Biol. Reprod. 13, 163-167.
- JOST, A. (1970): Hormonal factors in the sex differentiation of the mammalian foetus. Phil. Trans. B 259, 119-130.
- JOST, A., MAGRE, S. and CRESSANT, M. (1974): Sertoli cells and early testicular differentiation. In: Male fertility and sterility. Mancini, R.E. and Martini, L., eds. I-II; Academic Press, New York. 1-10.
- JOST, A. et PREPIN, I. (1966): Données sur la migration des cellules germinales primordiales du foetus de Veau. Arch. Anat. microsc. Morphol. expér. 55, 161-168.
- KARG, H. (1967): Bestimmung des Interstitialzellen stimu-lierenden Hormones in Rinderhypophysen während der Fetalzeit und der Geburt. In: Sonderdruck aus 13. Sympo-sion der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie, Würzburg. 141-143.

- KARG, H. and STRUCK, H.J. (1966): Testosterone/androstendione relationship in the foetal bovine testis. Bericht des 2. Int. Congr. of Hormonale Steroids, Mailand; Excerpta med. No.111, p.288.
- KELLOKUMPU-LETHINEN, P.L. and SÖDERSTRÖM, K.O. (1978): Occurrence of nuage in fetal human germ cells. Cell Tiss. Res. 194, 171-177.
- KESSEL, R.G. and BEAMS, H.W. (1963): Nucleolar extrusion in Oocytes of Thyone briareus. Exp. Cell. Res. 32, 612-615.
- KHALIL, I.A. and HAUSER, E.H. (1979): Testis Morphology and Gonadotropin Hormones Binding in Fetal Calves. 71st Annual Meeting of the American Society of Animal Science, Tuscon, Arizona, USA.
- KIM, C.K., YEN, S.C.C. and BENIRSCHKE, K. (1972): Serum testosterone in fetal cattle. Gen. comp. Endocr. 18, 404-407.
- KINSKY, I. (1979): Bildung des somatischen Gonadenblastems durch degenerierende Urnierenanteile des Kaninchens. Verh. Anat. Ges. 73, 403-406.
- KISER, T.E., CONVEY, E.M., LIN, Y.C., OXENDER, W.D. (1975): Luteinizing Hormone and Androgens in the Bovine Fetus after Gonadotropin-Releasing Hormone. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 149, 785-789.
- KÖNIG, A. und ELSAESSER, F. (1974): Neuere Erkenntnisse der Endokrinologie der Fortpflanzung und Laktation bei Haustieren. 5.Folge: Endokrinologie der Sexualentwicklung. In: Dt. Tierärztl. Wochenschrift, 81. Jahrg., Nr.12, 273-275.
- LEIDL, W., BUCK, G., BRAUN, J., BRAUN, U. (1982): The Testis. In: Handbook of Endocrinology; Gass, G.H. and Kaplan, H.M., eds.; CRC Press inc.; 145-175.
- LENGFELDER, K.-D. (1978): Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Differenzierung männlicher Keimzellen des Rindes. Inaugural-Dissertation, LMU München.
- LEYDIG, F. (1850): Zur Anatomie der menschlichen Geschlechtsorgane und Analdrüsen der Säugetiere. Z. wiss. Zool. 2, 1-57.
- LORDING, D.W. and de KRETZER, D.M. (1972): Comparative ultrastructural and histochemical studies of the interstitial cells of the rat testis during fetal and postnatal development. J. Reprod. Fertil. 29, 261-269.

- MATSCHKE, G.H. and ERICKSON, B.H. (1969): Development and radioresponse of the prenatal bovine testis. Biol. Reprod. 1, 207-214.
- MERCHANT, H. (1975): Rat gonadal and ovarian organogenesis with and without germ cells. An ultrastructural study. Dev. Biol. 44, 1-21.
- MERCHANT-LARIOS, H. (1976): The onset of testicular differentiation in the rat: An ultrastructural study. Am. J. Anat. 145, 319-330.
- MONGKONPUNYA, K., LIN, Y.C., NODEN, P.A., OXENDER, W.P. and HAFS, H.D. (1975): Androgens in the bovine fetus and dam. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 148, 489-493.
- NAGANO, T. (1966): Some observations on the fine structure of the Sertoli cell in the Human testis. Z. Zellforsch. 73, 89-106.
- NAGANO, T. and SUZUKI, F. (1978): Cell to cell relationship in the seminiferous epithelium in the mouse embryo. Cell Tiss. Res. 189/3, 389-401.
- NIEMI, M., IKONEN, M., HERVONEN, A. (1967): Histochemistry and fine structure of the interstitial tissue in the human foetal testis. Ciba Foundation Colloquia on Endocrinology, Vol.16, Endocrinology of the testis. Wolstenholme and O'Connor, London; 31-55.
- NISTAL, M. and PANIAGUA, R. (1979): Ultrastructure of testicular biopsy from an xx male. Virchows Arch. (Cell Pathol.) 31, 45-55.
- OHNO, S. (1977): The Y-linked H-Y antigen locus and the x-linked Tfm-locus as major regulatory genes of the mammalian sex determining mechanism. J. Steroid. Biochem. 8, 585-592.
- PALADE, G.E., SIEKEVITZ, P. and CARO, L.G. (1962): Structure, chemistry and function of the pancreatic exocrine cell. In: Ciba Foundation Symposium on the Exocrine Pancreas, A.V.S. de Reuch and M.P. Cameros, eds., J. and A. Churchill, London; 23-49.
- PELLINIEMI, L.J. (1975): Ultrastructure of the early ovary and testis in pig embryos. Am. J. Anat. 144, 89-112.
- PELLINIEMI, L.J. and NIEMI, M. (1969): Fine structure of the human foetal testis. I. The interstitial tissue. Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 99, 507-522.

- PRICE, D. and ORTIZ, E. (1965): The role of the fetal Androgen in sex differentiation in mammals. In: Organogenesis. De Haan, R.L. and Urspring, H.CH., eds.; Holt, Rinehart and Winston, New York. 629-652.
- PRICE, D., ZAAIJER, J.J.P., ORTIZ, E. and BRINKMAN, A.O. (1975): Current views on embryonic sex differentiation in reptils, birds and mammals. Am. Zool. (Suppl.) 1, 173-195.
- REZNIKOV, A.G. (1978): Hormonal Regulation of sexual Differentiation of the Brain. Fiziol ZH (Kiev) 24(1), 126-133.
- RIECK, G.W. (1983): Grundlagen der Geschlechtsdifferenzierung. In: Fortpflanzungsstörungen bei Haustieren. F. Schaetz und W. Leidl, eds., Enke Verlag, S.69.
- ROOSEN-RUNGE, E.C. and LEIK, J. (1968): Gonocyte degeneration in the postnatal male rat. Am. J. Anat. 122, 275-300.
- ROSAS, de, J.C. and RUSSO, J. (1971): Pre- and post-natal differentiation of the hamster Leydig cell. Z. Anat. Entwicklungsgesch. 134, 235-242.
- RÜSSE, I. (1983): Oogenesis in cattle and sheep. Biblthca. anat., No. 24, 77-92.
- RÜSSE, I. und RÜSSE, M. (1963): Die Lage des Kalbes während der Gravidität. Tierärztliche Umschau, 18. Jahrgang, Nr. 6, 309-313.
- RUSSEL, L. (1977): Desmosome-like junctions between Sertoli and germ cells in rat testis. Am. J. Anat. 148, 301-312.
- RUSSO, J. and de ROSAS, J.C. (1971): Differentiation of the Leydig cell of the mouse testis during the fetal period - an ultrastructural study. Am. J. Anat. 130, 461-480.
- SAPSFORD, C.S., RAE, C.A. and CLELAND, K.W. (1969): The fate of residual bodies and degenerating germ cells and the lipid cycle in Sertoli cells in the bandicoot *Permeles nasuta*. Aust. J. Zool. 17, 729-753.
- SCHMIDT, W. und KREYBIG, T.V. (1965): Die vorgeburtliche Entwicklung der Gonaden der Ratte. 1. Die Entwicklung des Hodens. Z. Anat. Entwicklungsgesch. 124, 588-600.
- SEGUCHI, H. und HADZISELIMOVIC, F. (1982): Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die postnatale Entwicklung der Leydigzellen des Menschen. Acta anat. 112, 254-263.

- SERTOLI, E. (1865): Dell'esistenza di particolari cellule ramificate nei canalicoli seminiferi del testicolo umano. Morgagni 7, 31-59.
- SHEMESH, M., AILENBERG, M., MILAGUIR, F., AYALON, N., HANSEL, W. (1978): Hormone Secretion by Cultured Bovine Pre- and Postimplantation Gonads. Biol. Reprod. 19, 761-767.
- SIITERI, P.K. and WILSON, J.D. (1974): Testosterone formation and metabolism during male sexual differentiation in the human embryo. J.Clin. Endocrinol. Metab. 38, 113-125.
- STEINBERGER, A. and STEINBERGER, E. (1971): Replication pattern of Sertoli cells in maturing rat testis in vivo and in organ culture. Biol. of Reprod. 4, 84-87.
- STRAATEN, van, H.W.M. and WENSING, C.J.G. (1978): Leydig cell development in the testis of the pig. Biol. Reprod. 18/1, 86-93.
- SWANN, D.A., DONAHOE, P.K., ITO, Y., MORIKAWA, Y., HENDREN, W.H. (1979): Extraction of Mullerian inhibiting Substance from newborn calf Testis. Dev. Biol. 69/1, 73-84.
- TAKAYAMA, H. (1973): An electron microscopic study of the Sertoli cell in the human testis. Acta Urol. Japonica 19, 47-118.
- TRAN, O., MEUSY-DESSOLLE, N., JOSSO, N. (1981): Waning of Anti-Muellerian Activity an early Sign of Sertoli cell Maturation in Developing Pig. Biol. Reprod. 24/4, 923-932.
- TSENG, M.T., ALEXANDER, N., KITTINGER, G.W. (1975): Effects of fetal Decapitation on the Structure and Function of Leydig cells in Rhesus Monkeys (Macaca Mulatta). Am. J. Anat. 143, 349-362.
- VIGIER, B., PREPIN, J. and JOST, A. (1976): Chronologie du développement de l'appareil génital du fœtus de veau. Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exp. 65, 77-101.
- VITALE, R., FAWCETT, D.W. and DYM, M. (1973): The normal development of the blood-testis barrier and the effects of clomiphene and estrogen treatment. Anat. Rec. 176, 333-344.
- VOLLMERHAUS, B. (1964): Gefäßarchitektonische Untersuchungen am Geschlechtsapparat des weiblichen Hausrindes (Bos primigenius f. taurus, L. 1758). Zbl. Vet. Med. A 11, 538-596.

- VOSSMEYER, J. (1971): Zur Cytologie der pränatalen Gonaden-Entwicklung beim Menschen. I. Die Histogenese des Hodens, an Eponschnitten untersucht. Z. Anat. Entwicklungsgesch. 134, 146-164.
- VORSTENBOSCH, van, C.J.A.H.V., COLENBRANDER, B., WENSING, C.J.G. (1982): Leydig cell Development of Pig Testis in the Early Fetal Period. An Ultrastructural Study. Am. J. Anat. 165/3, 305-318.
- WARREN, D.W., HALTMEYER, G.C. and EIK-NES, K.B. (1973): Testosterone in the fetal rat testis. Biol. Reprod. 8, 560-565.
- WARTENBERG, H. (1978): Human testicular development and the role of the mesonephros in the origin of a dual Sertoli cell system. Andrologia 10/1, 1-21.
- WARTENBERG, H. (1983): Germ cell Migration Induced and Guided by Somatic cell Interaction. Biblthca. anat. No. 24, 93-100.
- WARTENBERG, H., HOLSTEIN, A.F. und VOSSMEYER, J. (1971): Zur Cytologie der pränatalen Gonaden-Entwicklung beim Menschen. II. Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Cytogenese von Gonocyten und fetalen Spermatogonien im Hoden. Z. Anat. Entwicklungsgesch. 134, 165-185.
- WENIGER, J. and ZEIS, A. (1972): Sur la sécrétion précoce de testostérone par le testicule embryonnaire de souris. C.R. Acad. Sci. (D), Paris, 275, 1431-1433.
- WENIGER, J. and ZEIS, A. (1975): Effet de gonadotrophines sur la synthèse d'androgènes par les testicules embryonnaires de souris et de rat. Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exp. 64, 61-66.
- WILSON, J.D. and SIITERI, P.K. (1973): Developmental pattern of testosterone sythesis in the fetal gonad of the rabbit. Endocrinology 92, 1182-1191.
- WINTERS, L.M., GREEN, W.W. and COMSTOCK, R.E. (1942): Prenatal development of the bovine. Minnesota Ag. Expt. Sta. Tech. Bull. No. 151, 1-50.
- WOLF, U. und ZENZES, M.T. (1979): Gonadendifferenzierung und H-Y Antigen. Verh. Anat. Ges. 73, 379-384.
- ZAMBONI, L. and GONDOS, B. (1968): Intercellular bridges and synchronization of germ cell differentiation during oogenesis in rabbit. J.Cell Biol. 36, 276-282.

ZAMBONI, L. and MERCHANT, H. (1973): The fine morphology of mouse primordial germ cells in extragonadal locations. Am. J. Anat. 137, 299-335.

ZAMBONI, L. and UPADHYAY, S. (1982): The Contribution of the Mesonephros to the Development of the Sheep Fetal Testis. Am. J. Anat. 165/3, 339-356.

Herrn Prof. Dr. P. Walter †, ehem. Vorstand des Institutes für Tieranatomie, Lehrstuhl für Histologie und Embryologie der Tiere der Tierärztlichen Fakultät der Universität München, gedenke ich in Dankbarkeit für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes.

Ganz besonders möchte ich an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. H.-G. Liebich für die Überlassung des Themas, sein in mich gesetztes Vertrauen, seine ständige und engagierte Unterstützung und für die kritische Durchsicht des Manuskriptes danken.

Mein herzlicher Dank gilt ferner Frau Prof. Dr. J. Rüsse für die Ergänzung meiner Präparatesammlung und für ihre Hilfe bei der Geschlechtsbestimmung der Feten.

Bei Herrn Dr. W. Amselgruber bedanke ich mich vielmals für die Herstellung der Spezialfärbungen.

Frau Roming möchte ich für die Anfertigung der Semidünnschnitte, Frau Münster für die Ausführung der umfangreichen photographischen Arbeiten danken. Frau Ruppel bin ich für das Zeichnen der schematischen Darstellung sehr zu Dank verpflichtet.

Lebenslauf

16.12.1957 geboren als Tochter des Hans Georg Schrag,
Diplomingenieur für Baustatik, und der
Hannelore Schrag, geb. Bauer, in Pforzheim

1965 - 1968 Besuch der Grundschule in Pforzheim

1968 - 1977 Besuch des Reuchlin-Gymnasiums in Pforzheim

Juni 1977 Abitur am Reuchlin-Gymnasium

November 1977 Beginn des Studiums der Veterinärmedizin an
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Aug.-Okt.1981 Famulatur am Berkeley Dog and Cat Hospital,
California

Dezember 1982 Tierärztliche Prüfung

Februar 1983 Approbation als Tierärztin

Das Thema meiner Dissertation wurde mir im Februar 1980
gestellt. Seither bin ich am Institut für Tieranatomie,
Lehrstuhl für Histologie und Embryologie der Tierärztli-
chen Fakultät der Universität München tätig.

